

明細書

抗癌剤の新規標的タンパク質および対応する新規抗癌剤（スプナール）

技術分野

- 5 本発明は、新規な創薬ターゲットに関する。より詳しくは、スリンドク及びその誘導体等の非ステロイド性消炎・鎮痛剤（NSAIDs）による家族性大腸腺腫症（FAP）への有効性を担うと考えられるターゲット分子に関する。本発明はまた、当該ターゲット分子に特異的に結合する化合物に関する。

10

背景技術

- ヒトゲノムの塩基配列が解読されるのに伴い、研究の対象はゲノム創薬、創薬ターゲットの探索・同定へと移行している。その中で、元来非ステロイド性消炎・鎮痛剤として汎用されてきたスリンドク（Sulindac）
15. ndac）および誘導体、あるいはセレコキシブ（Celecoxib）等の非ステロイド性消炎・鎮痛剤（NSAIDs；Non-steroidal anti-inflammatory drugs）が当初予想もされなかった家族性大腸腺腫症（FAP；Familia adenomatous polyposis）等の癌の領域においても
20 有効性を示すという注目すべき報告があるが、これらの化合物の癌領域での有効性を担うと考えられるターゲット同定もその一つである。

- これまで、このメカニズムとしては主にこれらNSAIDs特異的ターゲットであるシクロオキシゲナーゼ（COX）（COX1、COX2）の寄与が考えられてきた（Cancer Research, 57, p.
25 2452-2459（1997）参照）。しかしながら、スリンドクやある種のスリンドク誘導体（具体的にはスリンドクスルホン）はCOX1やCOX2に対して弱い阻害作用しか示さない（Cancer Res

earch, 57, p. 2909-2915 (1997) 参照)。

このようなCOXに対する活性が弱く、その抗癌作用への関与が否定的であるスリンドク誘導体（スリンドクスルホン等）のFAPへの有効性に関しては、現在ホスホジエステラーゼ5（PDE5）阻害作用との
5 関係が示唆され、インビトロ、インビボの研究室レベルでの実験がなされてきた（Cancer Research, 57, p. 2452-2459 (1997) 参照）。しかしながら、これら誘導体による臨床における抗癌作用の全てを説明するには不十分な点も残されており、その真のメカニズムの解明が待たれていた。

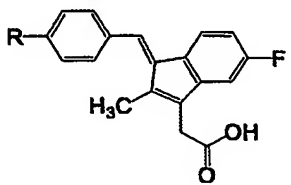
10

発明の開示

本発明はスリンドクおよびその誘導体、セレコキシブ等のNSAIDsによる家族性大腸腺腫症への有効性を担うと考えられるターゲットを
15 同定し、当該ターゲットを用いて家族性大腸腺腫症等の疾患の治療に有用な化合物のスクリーニング方法ならびに該スクリーニングによって得られる化合物を提供することを目的とする。

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究し、スリンドクおよびその誘導体、セレコキシブ等のNSAIDsが有する抗癌作用（臨床有効性）のメカニズムを説明し得るターゲットの探索を行った。その結果、
20 KSRP（KH-type splicing regulatory protein）と呼ばれるmRNAのスプライシングを制御するタンパク質がこれらの誘導体の抗癌作用を説明するのに十分な新規創薬ターゲットであることを見出し（表1）、かかるターゲットあるいは該ターゲットを発現する細胞を用いて、増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患等
25 の疾患の治療に有用な化合物のスクリーニング方法を開発し、候補化合物を得て本発明を完成するに至った。

(表 1)

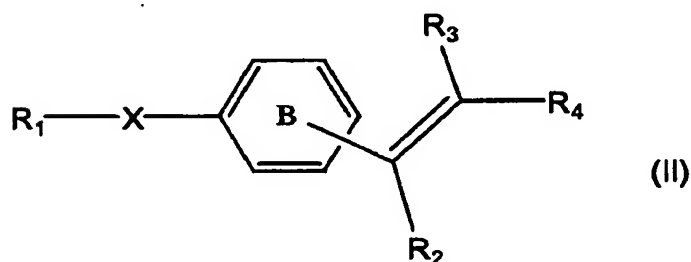
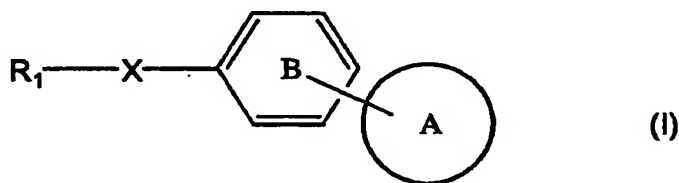
	COX1 阻害作用	COX2 阻害作用	抗癌剤としての開 発状況	KSRP 結合性
スリダクスルファイド ($R = S\text{CH}_3$)	○	○	開発実績なし	×
スリダクス ($R = \text{SOCH}_3$)	×	×	FAP で開発中	○
スリダクスルホン ($R = \text{SO}_2\text{CH}_3$)	×	×	FAP (申請中) 食道癌/小細胞肺 癌 (以上 P 2 開発 中) / 前立腺癌/乳 癌/非小細胞性癌 (以上 P 3 開発中)	○

×：作用弱い、○：明確な阻害作用あり

即ち本発明は下記の通りである。

〔1〕 一般式 (I) または一般式 (II) で表わされる化合物またはそ

5 の医薬上許容され得る塩：



(式中、X は



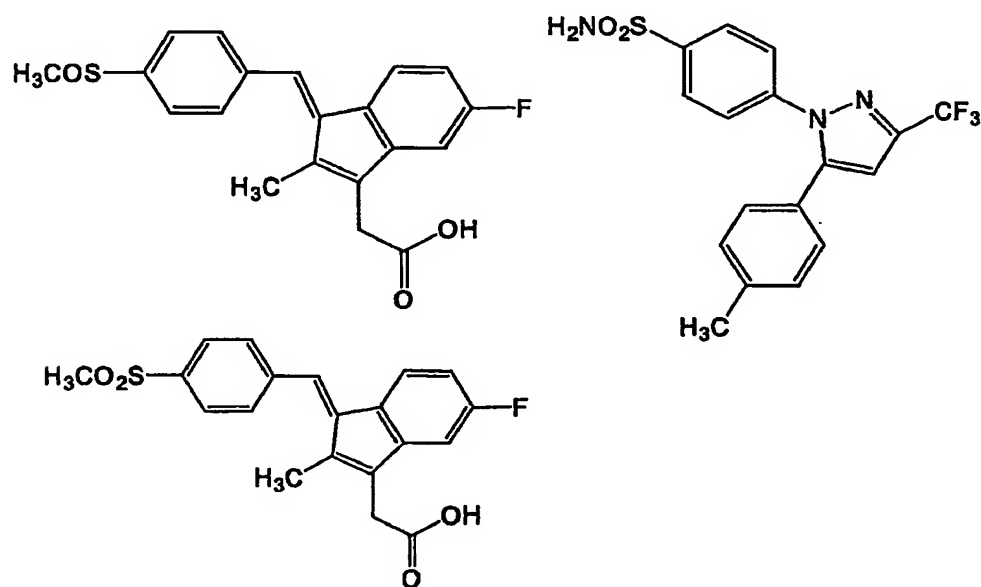
であり；

環Aは、置換されていてもよい、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基または飽和もしくは不飽和の複素環基であり；

- 5 環Bは、さらに1乃至4個の置換基を有していてもよいベンゼン環であり；

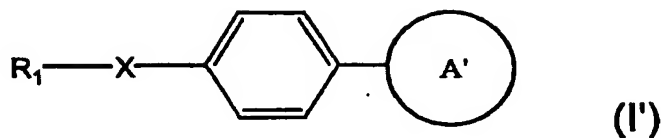
R₁は置換されていてもよい低級アルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換アミド基または置換されていてもよいアミノ基であり；

- 10 R₂～R₄は同一または異なって、水素原子、飽和もしくは不飽和の炭化水素基あるいは飽和もしくは不飽和の複素環基である（R₃およびR₄は結合して環を形成してもよい）、但し以下の化合物は除く。



〔2〕式（I）で表わされる化合物が式（I'）で表わされる化合物であ

る、上記〔1〕記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩：



(式中、環 A' は、置換されていてもよい飽和もしくは不飽和の複素環基であり；それ以外の記号は上記〔1〕と同義である)。

- 5 〔3〕一般式 (I') 中、環 A' が、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基、飽和もしくは不飽和の複素環基、カルボキシ基、置換アミド基および置換されていてもよい低級アルキル基からなる群より選択される少なくとも 1 つの置換基で置換されていてもよい、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基または飽和もしくは不飽和の複素環基である、上記〔2〕
- 10 記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

- 〔4〕一般式 (I') 中、環 A' が、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基、および飽和もしくは不飽和の複素環基からなる群より選択されるいずれか 1 つの置換基と、カルボキシ基、置換アミド基および置換されていてもよい低級アルキル基からなる群より選択されるいずれか 1 つの
- 15 置換基を有する飽和もしくは不飽和の複素環基である、上記〔2〕記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

- 〔5〕一般式 (I I) 中、R₃ および R₄ が結合して形成される環が、カルボキシ基、置換アミド基および置換されていてもよい低級アルキル基からなる群より選択される少なくとも 1 つの置換基を有していてもよい
- 20 飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基または飽和もしくは不飽和の複素環基である、上記〔1〕記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

- 〔6〕一般式 (I I) 中、R₃ および R₄ が結合して形成される環が、カルボキシ基、置換アミド基および置換されていてもよい低級アルキル

基からなる群より選択される少なくとも1つの置換基を有していてもよい飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基である上記〔5〕記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

〔7〕飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基がインデンである、上記〔6〕

5 記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

〔8〕上記〔1〕～〔7〕のいずれかに記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩を有効成分として含有する医薬組成物。

〔9〕増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療用である、上記〔8〕記載の医薬組成物。

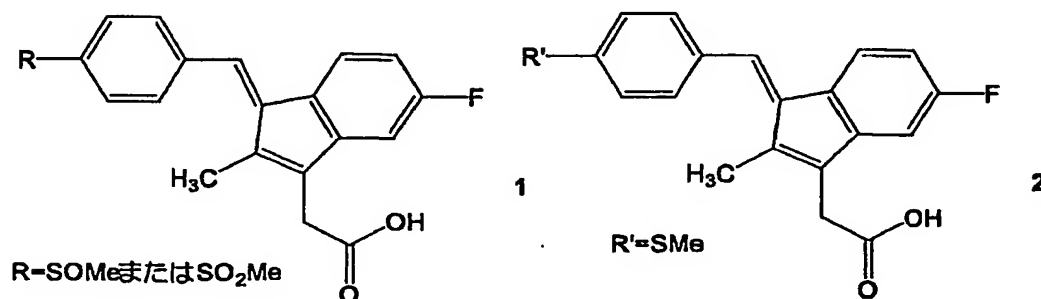
10 〔10〕配列番号2のアミノ酸配列を有するタンパク質と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

〔11〕配列番号2のアミノ酸配列において、1または2以上のアミノ酸を欠失、置換若しくは付加してなるアミノ酸配列を有し且つ以下の特徴を有するタンパク質と特異的に結合する化合物を有効成分として含有

15 する医薬組成物；

(i) 式1化合物と結合する

(ii) 式2化合物と結合しない。



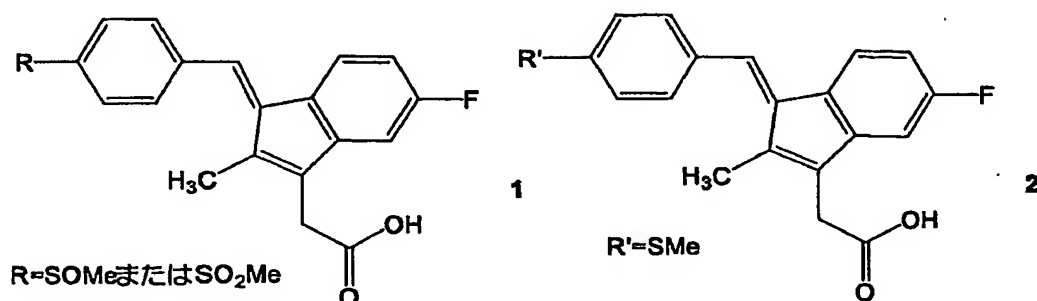
20 〔12〕配列番号3のアミノ酸配列を有するタンパク質と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

〔13〕配列番号3のアミノ酸配列において、1または2以上のアミノ

酸を欠失、置換若しくは付加してなるアミノ酸配列を有し且つ以下の特徴を有するタンパク質と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物；

(i) 式 1 化合物と結合する

5 (ii) 式 2 化合物と結合しない。



〔14〕 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療用である、上記〔10〕～〔13〕のいずれかに記載の医薬組成物。

10 〔15〕 増殖性疾患が、家族性大腸腺腫症、食道癌、小細胞肺癌、前立腺癌、乳癌、非小細胞性癌および卵巣癌からなる群より選択される少なくとも1種である、上記〔14〕記載の医薬組成物。

〔16〕 KSRP と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

15 〔17〕 KSRP の発現を制御する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

〔18〕 KSRP の活性を制御する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

20 〔19〕 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療用である、上記〔16〕～〔18〕のいずれかに記載の医薬組成物。

〔20〕増殖性疾患が、家族性大腸腺腫症、食道癌、小細胞肺癌、前立腺癌、乳癌、非小細胞性癌および卵巣癌からなる群より選択される少なくとも1種である、上記〔19〕記載の医薬組成物。

〔21〕増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、
5 以下の工程を含む方法；

（1）KSRPまたはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

（2）該試験化合物が、KSRPまたはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

10 （3）上記（2）の工程においてKSRPまたはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

〔22〕増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以下の工程を含む方法；

15 （1）配列番号2のアミノ酸配列を有するタンパク質またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

（2）該試験化合物が、該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

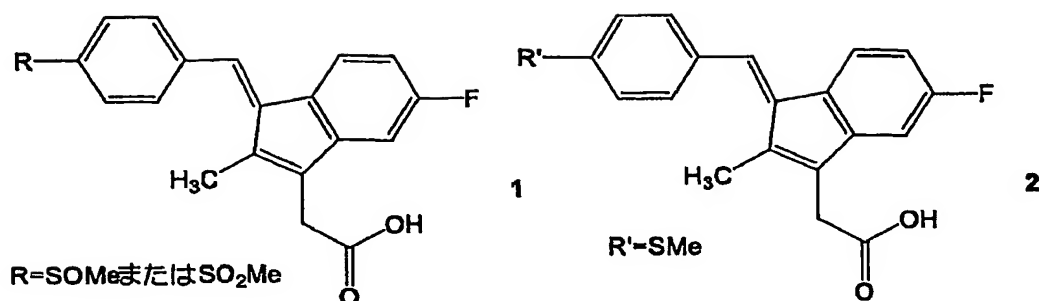
20 （3）上記（2）の工程において該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

〔23〕増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以下の工程を含む方法；

25 （1）配列番号2のアミノ酸配列において、1または2以上のアミノ酸を欠失、置換または付加してなるアミノ酸配列を有し且つ以下の特徴

（i）式1化合物と結合する

（ii）式2化合物と結合しない



を有するタンパク質またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

5 (2) 該試験化合物が、該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

(3) 上記(2)の工程において該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

10 [24] 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以下の工程を含む方法；

(1) 配列番号3のアミノ酸配列を有するタンパク質またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

(2) 該試験化合物が、該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

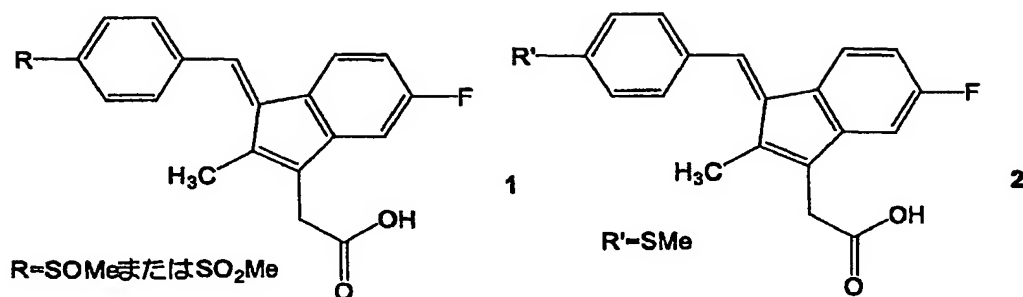
15 (3) 上記(2)の工程において該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

[25] 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以下の工程を含む方法；

20 (1) 配列番号3のアミノ酸配列において、1または2以上のアミノ酸を欠失、置換または付加してなるアミノ酸配列を有し、且つ以下の特徴

(i) 式 1 化合物と結合する

(ii) 式 2 化合物と結合しない



を有するタンパク質またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

(2) 該試験化合物が、該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

(3) 上記(2)の工程において該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

〔26〕 上記〔21〕～〔25〕のいずれかに記載のスクリーニング方法によって得られる増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物。

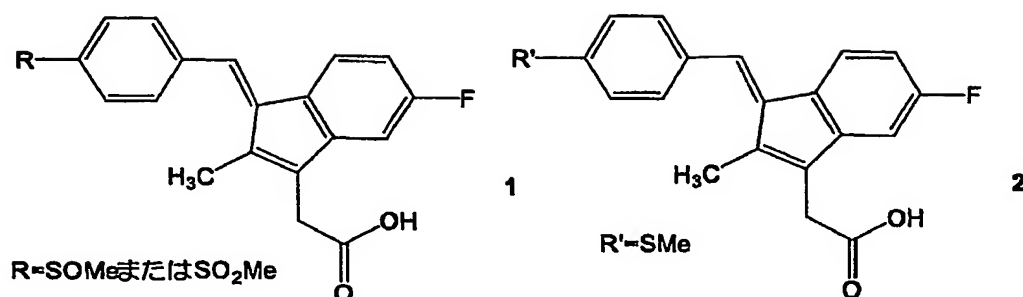
図面の簡単な説明

図1は、各化合物のKSRP結合の特異性を調べた結果を示している。KSRPと特異的に結合する化合物を固定化した固相担体上には1回目の固定化樹脂処理で速やかにKSRPが結合する。スリンダクスルファイドを固定した樹脂以外の4化合物を固定化した樹脂にはKSRPが結合した。

発明を実施するための最良の形態

KSRP (KH-type splicing regulatory protein) は、別名 FBP2 (FUSE binding protein 2) と称され、当初 c-myc の発現に重要な働きをする FBP (FUSE binding protein) に類似した
5 タンパク質として 1996 年に NIH の D. Levens によって発見され (J. Biol. Chem., 271 (49), p. 31679-31687 (1996))、その後、増殖作用に関与する c-src のスプライシング・バリエーション成熟に必須なタンパク質として 1997 年に別グループによって別個に発見されたタンパク質である (Gene & Development, 11, p. 1023-1036 (1997))。
10 また、近年では細胞をアポトーシスに導く際に重要となるカスパーゼ 3, 7 の基質タンパク質として同定され (Protein & Peptide Lett., 9 (6), p. 511-519 (2002))、また Jurakat 細胞を Fas 抗原にてアポトーシスに導く際に関する
15 プロテオーム解析においても顕著な変化を示すタンパク質として同定される (J. Biol. Chem., 276 (28), p. 26044-26050 (2001)) 等、注目を集めているタンパク質である。より具体的には配列番号 2 のアミノ酸配列で表わされる 711 個のアミノ酸からなるタンパク質である (アクセッション No. NP_003676)。

20 本発明において KSRP としては、(i) 式 1 化合物と結合し、(ii) 式 2 化合物とは結合しない



という特徴を有するタンパク質であれば必ずしも配列番号 2 のアミノ酸配列のみで表わされる必要はなく、配列番号 2 のアミノ酸配列を有するタンパク質、配列番号 2 のアミノ酸配列において、1 または 2 以上のアミノ酸を欠失、置換または付加してなるアミノ酸配列を有するタンパク質であってもよい。より具体的には配列番号 2 のアミノ酸配列と 60 % 以上、70 % 以上、80 % 以上、好ましくは 90 % 以上、特に好ましくは 95 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列で表わされるタンパク質であり、配列番号 2 のアミノ酸配列中、40 アミノ酸以上、好ましくは 70 アミノ酸以上、特に好ましくは 100 アミノ酸以上の連続したアミノ酸を含むタンパク質（ポリペプチド）であることがいっそう好ましい。

本明細書中、「相同性」とは、二つのポリペプチド配列の間の配列相関性の程度を意味するものである。相同性は容易に算出することができる。二つのポリペプチド配列間の相同性を測定する方法は数多く知られており、「相同性」（「同一性」とも言われる）なる用語は、当業者には周知である。二つの配列の相同性を測定するのに用いる一般的な方法には、Martin, J. Bishop (Ed.), Guide to Huge Computers, Academic Press, San Diego, (1994); Carillo, H. & Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48:1073 (1988) 等

に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されるものではな

い。相同性を測定するための好ましい方法としては、試験する二つの配列間の最も大きな適合関係部分を得るように設計したものが挙げられる。このような方法は、コンピュータプログラムとして組み立てられているものが挙げられる。二つの配列間の相同性を測定するための好ましい

5 コンピュータプログラム法としては、GCG プログラムパッケージ (Devereux, J. et al., *Nucleic Acids Research*, 12 (1): 387 (1984))、BLASTP、FASTA等が挙げられるが、これらに限定されるものでなく、当該分野で公知の方法を使用することができる。

- 10 さらに、本発明においてはスリンダク誘導体等の一連のNSAIDsのターゲットであり得るならば、(i) 式1化合物と結合し、(ii) 式2化合物とは結合しないという特徴を有する範囲内でKSRPの断片であってもよく、以下このような断片をKSRPの機能的断片ともいう。機能的断片としては、具体的には、配列番号3のアミノ酸配列で表わされる
- 15 タンパク質や、(i) 式1化合物と結合し、(ii) 式2化合物とは結合しないという特徴を保持し且つ、配列番号3のアミノ酸配列において、1または2以上のアミノ酸を欠失、置換または付加してなるアミノ酸配列からなるタンパク質等が挙げられる。

- いづれの態様も、特段のことわりのない限り本発明におけるKSRP
- 20 に包含される。

- 「特異的に結合する」とは、アゴニストあるいはアンタゴニストに対する特異的受容体、基質に対する酵素、そして例えばFK506 (リガンド) に対するFK506結合タンパク質 (ターゲット分子) や、ステロイドホルモンに対するステロイドホルモン受容体 (例 = dexamethasonとglucocorticoid receptor)、抗
- 25 がん剤trapoxinに対するHDAC等の関係に例示されるものであり、Kd、Ka等の数値として、競合実験等により確認することがで

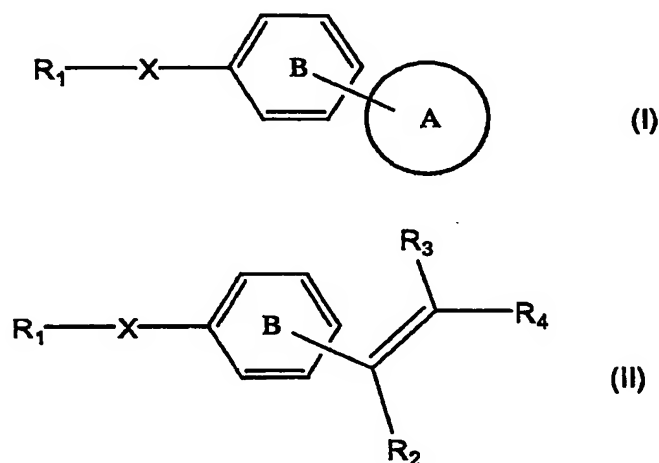
きる。実施例にて後述するが、具体的数値として表わす以外に電気泳動法等の視覚的手段により確認することもできる。

本発明はK S R P（配列番号2のアミノ酸配列を有するタンパク質、配列番号2のアミノ酸配列において、1または2以上のアミノ酸を欠失、置換または付加してなるアミノ酸配列を有し且つ（i）式1化合物と結合し、（ii）式2化合物とは結合しないという特徴を有するタンパク質等）およびその機能的断片（例えば配列番号3のアミノ酸配列を有するタンパク質、配列番号3のアミノ酸配列において、1または2以上のアミノ酸を欠失、置換または付加してなるアミノ酸配列を有し且つ（i）式1化合物と結合し、（ii）式2化合物とは結合しないという特徴を有するタンパク質等）に特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物を提供する。かかる化合物は新規な抗癌ターゲットであるK S R Pと結合することによりK S R Pの発現を制御し、および／またはその活性を制御することが可能であり、従ってK S R Pが関与する種々の疾患の予防や治療に有用である。例えば卵巣癌や非小細胞癌、乳癌等への適用が報告されているタキソールもK S R Pと結合する（後述：実施例参照）。K S R Pが関与する種々の疾患としては、上述したような従来の報告により、増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患等が例示されるが、K S R Pがかかる疾患の治療に有用な化合物のスクリーニングに利用可能なターゲットであるという報告はない。「増殖性疾患」とは、細胞の異常な増殖を特徴とし、その増殖が発症や病状の進行に関連していると考えられる疾患であり、例えば、家族性大腸腺腫、食道癌、小細胞肺癌、前立腺癌、乳癌、非小細胞性癌等が挙げられる。「炎症性疾患」とは、外因性あるいは内因性の急性あるいは慢性の疾患であり、急性疾患の場合には発熱、発赤、腫脹、疼痛および機能障害の5主徴を伴う。「脳疾患」とは脳において観察される、外因性あるいは内因性の機能障害を意味する。

さらに、K S R Pが、増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患等の新規

の創薬ターゲットとなり得るという本発明において見出された知見によれば、直接 K S R P と結合しなくても直接的あるいは間接的に作用して結果的に K S R P の発現や活性を制御する化合物もまた増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患の治療に有用であるといえる。

- 5 本発明に有効成分として含められる化合物としては具体的には一般式 (I) または一般式 (II) で表わされる化合物またはその医薬上許容され得る塩が例示される。



(式中、X は



10

であり；

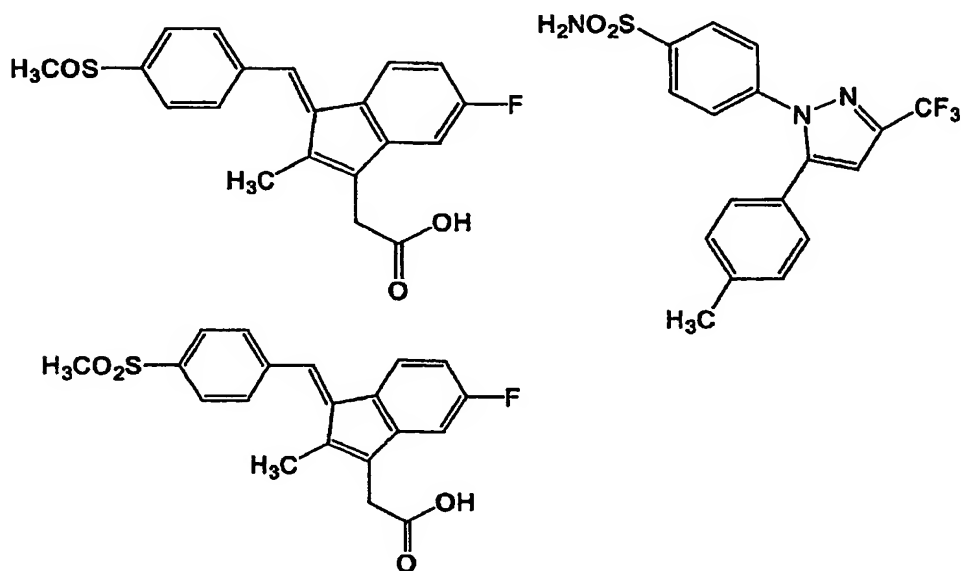
環 A は、置換されていてもよい、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基または飽和もしくは不飽和の複素環基であり；

環 B は、さらに 1 乃至 4 個の置換基を有していてもよいベンゼン環であ
り；

15

R₁ は置換されていてもよい低級アルキル基、置換されていてもよいア

リール基、置換アミド基または置換されていてもよいアミノ基であり；
 $R_2 \sim R_4$ は同一または異なって、水素原子、飽和もしくは不飽和の炭化
 水素基あるいは飽和もしくは不飽和の複素環基である（ R_3 および R_4 は
 結合して環を形成してもよい）、但し以下の化合物は除く。



5

本明細書中、「飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基」とは、炭素数 3
 乃至 18 の飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基、具体的には、例えば、
 脂環式炭化水素基、芳香族炭化水素基等が挙げられる。

該「脂環式炭化水素基」としては、例えば 3 乃至 10 個の炭素原子か
 ら構成される単環式または縮合多環式の基、具体的にはシクロアルキル
 基、シクロアルケニル基およびこれらと炭素数 6 乃至 14 のアリール基
 （例えば、ベンゼン等）等との 2 または 3 環式縮合環等が挙げられる。
 該「シクロアルキル基」としては、例えばシクロプロピル、シクロブチ
 ル、シクロペンチル、シクロヘキシル等の炭素数 3 乃至 6 のシクロアル
 キル基等が、該「シクロアルケニル基」としては、例えばシクロプロペ
 ニル、シクロブテニル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル等炭素数

3乃至6のシクロアルケニル基等が挙げられる。

該「芳香族炭化水素基」としては、例えば6乃至18個の炭素原子から構成される単環式芳香族炭化水素基、縮合多環式芳香族炭化水素基等が挙げられ、具体的には、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチル、2-インデニル、2-アンスリル等の炭素数6乃至14のアリール基が挙げられる。

本明細書中、「飽和もしくは不飽和の複素環基」とは、例えば窒素原子を1～2個含む5～6員単環式の基、窒素原子を1～2個と酸素原子を1個もしくは硫黄原子を1個含む5～6員単環式の基、酸素原子を1個もしくは硫黄原子を1個含む5員単環式の基、窒素原子1～4個を含み、6員環と5または6員環が縮合した二環式の基等が挙げられ、具体的には、例えば、ピリジル、チエニル、オキサジアゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、フリル、ピロリル、キノリル、キナゾリニル、プリニル、ピラゾリル、チオフエニル等が挙げられる。

「置換されていてもよい、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基または飽和もしくは不飽和の複素環基」の置換基としては、特に限定されないが、例えば、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基（前述と同義）、飽和もしくは不飽和の複素環基（前述と同義）、ハロゲン原子（後述）、カルボキシル基、置換アミド基（後述）、置換されていてもよい低級アルキル基（後述）等が挙げられる。これらの置換基は、該環状炭化水素基もしくは複素環基上に化学的に許容される範囲において置換される。ただし、置換基の数が2個以上の場合は同一または相異なっているとしてもよい。好ましくは置換されていてもよい飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基（前述と同義）および置換されていてもよい飽和もしくは不飽和の複素環基（前述と同義）からなる群より選択されるいずれか1つの置換基（例えばメチルフェニル）と、ハロゲン原子（後述）、カルボキシル基、置換

アミド基（後述）および置換されていてもよい低級アルキル基（後述）からなる群より選択されるいずれか1つの置換基（例えばトリフルオロメチル）との2個の置換基を有する。

「ハロゲン原子」としては、例えばフッ素、塩素、臭素、ヨウ素等が
5 挙げられる。

「置換アミド基」としては、N置換アミド基またはN，N'ジ置換アミド基が挙げられ具体的には低級アルキル基（後述）で置換されたアミド基等が挙げられる。

本明細書中、「低級アルキル基」としては、例えば、炭素数1乃至6の
10 直鎖状、分枝状または環状のアルキル基を示し、具体的にはメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル、シクロプロピル、シクロブチル等が挙げられる。「置換されていてもよい低級アルキル基」における「置換基」としては、カルボキシル基、置換アミド基（前述と同義）、
15 シアノ基、ハロゲン原子（前述と同義）等が挙げられる。

ベンゼン環Bが有していてもよい1乃至4個の置換基は、化合物がKSRPとの結合性を維持している、および／またはKSRPの発現を制御、KSRPの活性を制御し得る限りは特に限定されず、同一であっても異なってもよい。例えば、飽和もしくは不飽和の炭化水素基（後
20 述）あるいは飽和もしくは不飽和の複素環基（前述と同義）である。

本明細書中、「アリール基」としては、前述の「芳香族炭化水素基」と同様なものが挙げられる。「置換されていてもよいアリール基」における「置換基」としては、特に限定されないが、例えば、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基（前述と同義）、飽和もしくは不飽和の複素環基（前
25 述と同義）、ハロゲン原子（前述と同義）、アミノ基、カルボキシル基、置換アミド基（前述と同義）、置換されていてもよい低級アルキル基（前述と同義）等が挙げられる。

「置換されていてもよいアミノ基」における「置換基」としては、低級アルキル基（前述と同義）、低級アルカノイル基（例えばホルミル、アセチル、プロピオニル等の炭素数1乃至6のアルカノイル基）等が挙げられる。

5 「飽和もしくは不飽和の炭化水素基」としては、飽和もしくは不飽和の鎖式炭化水素基または飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基（前述と同義）等が挙げられる。「飽和もしくは不飽和の鎖式炭化水素基」としては例えば、炭素数1乃至10の直鎖状または分枝状鎖式炭化水素基等を示し、具体的には、例えばアルキル基、アルケニル基、アルキニル基等
10 が挙げられる。これらの中で特にアルキル基が好ましい。該「アルキル基」としては、例えばメチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、*n*-ヘキシル、イソヘキシル等の炭素数1乃至10のアルキル基等が挙げられる。該「アルケニル基」としては、例えばビニル、1-プロペニル、アリル、イソプロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、イソブテニル、*sec*-ブテニル等の炭素数2乃至10のアルケニル基等が挙げられる。該「アルキニル基」としては、例えばエチニル、1-プロピニル、プロパルギル等の炭素数2乃至10のアルキニル基等が挙げられる。

20 R_3 および R_4 が結合して形成してもよい環とは、具体的には飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基（前述と同義）または飽和もしくは不飽和の複素環基（前述と同義）であり、当該環は、ハロゲン原子（前述と同義）、カルボキシ基、置換アミド基（前述と同義）、置換されていてもよい低級アルキル基（前述と同義）等で置換されていてもよい。

25 本発明の一般式（I）または一般式（II）で表わされる化合物は、その基本骨格あるいは置換基の種類に基づく特徴を利用し、種々の公知の合成方法を適用して製造することができる。例えばアルキル化、アシ

ル化、アミノ化、イミノ化、ハロゲン化、還元、酸化、縮合等が挙げられ、通常当分野で用いられる反応または方法が利用できる。

本発明の一般式 (I) または一般式 (II) で表わされる化合物等の KSRP またはその機能的断片に結合し得る化合物は、ヒトを含め、サル、ウマ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウサギ、マウス、ラット、モルモットなどの哺乳動物に対して優れた抗癌作用、抗炎症作用および／または脳機能障害改善作用を有し、従って抗癌剤等の増殖性疾患治療剤、炎症性疾患治療剤ならびに脳疾患治療剤として有用である。対象となる疾患については上記した通りである。

同様に KSRP またはその機能的断片に結合し得るスプナールも、各種哺乳動物に対して優れた抗癌作用、抗炎症作用および／または脳機能障害改善作用を有し、従って抗癌剤等の増殖性疾患治療剤、炎症性疾患治療剤ならびに脳疾患治療剤として有用である（対象となる疾患については上記した通りである）。特にスプナールは抗癌剤として好適である。

以下一般式 (I) や一般式 (II) で表わされる化合物、スプナール、それ以外の KSRP またはその機能的断片に結合し得る化合物を総称して本発明化合物と称することもある。

本発明化合物は、医薬上許容され得る塩を形成していてもよく、該塩としては酸付加塩、例えば無機酸塩（例えば、塩酸塩、硫酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩等）、有機酸塩（例えば、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、プロピオン酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、乳酸塩、シュウ酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩等）等が挙げられる。

尚、本発明化合物またはその塩は水和物等の溶媒和物であってもよい。

本発明化合物が、増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療薬として使用される場合には、一般的な医薬製剤として調製され、経口または非経口的に投与される。

経口的に投与する場合、通常当分野で用いられる投与形態で投与することができる。非経口的に投与する場合には、局所投与剤（経皮剤等）、直腸投与剤、注射剤、経鼻剤等の投与形態で投与することができる。

5 経口剤または直腸投与剤としては、例えばカプセル、錠剤、ピル、散剤、ドロップ、カシエ剤、座剤、液剤等が挙げられる。注射剤としては、例えば、無菌の溶液又は懸濁液等が挙げられる。局所投与剤としては、例えば、クリーム、軟膏、ローション、経皮剤（通常のパッチ剤、マトリクス剤）等が挙げられる。

10 上記の剤形は当分野で通常行われている手法により、薬学的に許容される賦形剤、添加剤とともに製剤化され得る。薬学的に許容される賦形剤、添加剤としては、担体、結合剤、香料、緩衝剤、増粘剤、着色剤、安定剤、乳化剤、分散剤、懸濁化剤、防腐剤等が挙げられる。

15 薬学的に許容される担体としては、例えば、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、砂糖、ラクトース、ペクチン、デキストリン、澱粉、ゼラチン、トラガント、メチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、低融点ワックス、カカオバター等が挙げられる。

さらに、錠剤は必要に応じて通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、腸溶性コーティング錠、フィルムコーティング錠あるいは二層錠、多層錠とすることができる。散剤は、薬学的に許容される散剤の基剤と共に製剤化される。基剤としては、タルク、ラクトース、澱粉等が挙げられる。ドロップは水性又は非水性の基剤と一種またはそれ以上の薬学的に許容される拡散剤、懸濁化剤、溶解剤等と共に製剤化できる。カプセルは、有効成分となる化合物を薬学的に許容される担体と共に中に充填することにより製造できる。当該化合物は薬学的に許容される賦形剤と共に混合し、または賦形剤なしでカプセルの中に充填することができる。25 カシエ剤も同様の方法で製造できる。本発明を座剤として調製する場合、

植物油（ひまし油、オリーブ油、ピーナッツ油等）や鉱物油（ワセリン、白色ワセリン等）、ロウ類、部分合成もしくは全合成グリセリン脂肪酸エステル等の基剤と共に通常用いられる手法によって製剤化される。

5 注射用液剤としては、溶液、懸濁液、乳剤等が挙げられる。例えば、水溶液、水—プロピレングリコール溶液等が挙げられる。液剤は、水を含んでも良い、ポリエチレングリコールおよび／またはプロピレングリコールの溶液の形で製造することもできる。

10 経口投与に適切な液剤は、有効成分となる化合物を水に加え、着色剤、香料、安定化剤、甘味剤、溶解剤、増粘剤等を必要に応じて加え製造することができる。また経口投与に適切な液剤は、当該化合物を分散剤とともに水に加え、粘重にすることによっても製造できる。増粘剤としては、例えば、薬学的に許容される天然または合成ガム、レジン、メチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロースまたは公知の懸濁化剤等が挙げられる。

15 局所投与剤としては、上記の液剤および、クリーム、エアロゾル、スプレー、粉剤、ローション、軟膏等が挙げられる。上記の局所投与剤は、有効成分となる化合物と薬学的に許容される希釈剤および担体と混合することによって製造できる。軟膏およびクリームは、例えば、水性または油性の基剤に増粘剤および／またはゲル化剤を加えて製剤化する。該
20 基剤としては、例えば、水、液体パラフィン、植物油等が挙げられる。増粘剤としては、例えばソフトパラフィン、ステアリン酸アルミニウム、セトステアリルアルコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ラノリン、水素添加ラノリン、蜜蝋等が挙げられる。局所投与剤には、必要に応じて、ヒドロキシ安息香酸メチル、ヒドロキシ安息香酸プロピル、クロロクレゾール、ベンザルコニウムクロリド等の防腐剤、
25 細菌増殖防止剤を添加することもできる。ローションは、水性又は油性の基剤に、一種類またはそれ以上の薬学的に許容される安定剤、懸濁化

剤、乳化剤、拡散剤、増粘剤、着色剤、香料等を加えることができる。

投与量、投与回数は使用する化合物の種類、患者の症状、年齢、体重、投与形態等によって異なり、それらに応じて適宜設定する。

本発明はまた、K S R Pまたはその機能的断片（各用語の定義は上述
5 の通り）と特異的に結合し得るか否かを指標として、K S R Pが関与する種々の疾患、例えば増殖性疾患、炎症性疾患、脳疾患等の疾患の治療に有用な化合物のスクリーニングを行うことができる。ここでK S R Pまたはその機能的断片は、精製あるいは未精製のタンパク質（ポリペプチド）またはその（機能的）断片として用いることもできるし、細胞内
10 で発現した状態で使用することもできる。K S R Pまたはその（機能的）断片は、(1)それらを産生する細胞の培養物または組織を原料として単離精製する方法、(2)化学的に合成する方法または(3)遺伝子組換え技術等によりK S R Pまたはその（機能的）断片を発現するように操作された細胞から精製する方法等の公知手法を適宜用いることによって取得する
15 ことができる。

本発明のK S R Pまたはその（機能的）断片の単離精製は、例えば以下のようにして行うことができる。すなわちK S R Pまたはその（機能的）断片を発現している組織、あるいは適当な液体培地中でK S R Pまたはその（機能的）断片を発現している細胞を培養して得られる培養物
20 から公知の方法で抽出、精製される。当該抽出、精製の方法は目的生成物の存在する画分に応じて適宜公知の手法が用いられる。

具体的には次のようにして行なわれる。まず、組織あるいは培養物をそのまま濾過又は遠心分離等の常法に付して組織もしくは細胞あるいは上清を回収する。細胞中に所望するタンパク質が蓄積されている場合には、当該回収した細胞を適当な緩衝液剤中に懸濁して、さらに界面活性剤を適当な濃度で加えて膜を可溶化する。界面活性剤としてはドデシル硫酸ナトリウム(S D S)、セチルトリメチルアンモニウムブロマイド(C
25

T A B) 等が挙げられるが、これらは強力なタンパク質変性作用を有するので、タンパク質が生物活性を持つように折り畳まれるためには、例えば T r i t o n X - 1 0 0 等の穏やかな非イオン性界面活性剤を用いることが好ましい。次いで得られる粗抽出液を、必要ならば界面活性剤
5 の存在下で、一般に用いられる方法を適宜組み合わせることによって該タンパク質またはその機能的断片を単離精製する。塩析、溶媒沈澱法等の溶解度を利用する方法、透析、限外濾過、ゲル濾過、S D S - P A G E 等の分子量の差を利用する方法、イオン交換クロマトグラフィー等の荷電を利用する方法、アフィニティークロマトグラフィー等の特異的親
10 和性を利用する方法、逆相高速液体クロマトグラフィー等の疎水性の差を利用する方法、等電点電気泳動等の等電点の差を利用する方法等が挙げられる。より具体的には、例えば、減圧濃縮、凍結乾燥、常用の溶媒による抽出、p H 調整、陰イオン交換樹脂または陽イオン交換樹脂、非イオン性吸着樹脂等の常用の吸着剤による処理、結晶化、再結晶化等の
15 慣用の方法によって分離、精製することができる。

化学合成による本発明の K S R P またはその(機能的)断片の製造は、例えば配列番号 2 あるいは 3 に示されるアミノ酸配列情報を基に、ペプチド合成機を用いて合成あるいは半合成することにより行うことができる。

20 また、遺伝子組換え技術等により K S R P またはその(機能的)断片を発現するように操作された細胞から取得する場合には、具体的には以下のようにして行う。

まず、K S R P またはその機能的断片をコードする遺伝子を機能的に含有する発現ベクターを調製する。

25 K S R P またはその機能的断片をコードする遺伝子はいかなる方法で得られるものであってもよい。例えば、m R N A から調製される相補 D N A (c D N A)、ゲノミックライブラリーから調製されるゲノミック D

NA、化学的に合成されるDNA、RNA又はDNAを鋳型としてPCR法により増幅させて得られるDNA及びこれらの方法を適当に組み合わせて構築されるDNA等が含まれる。例えば配列番号1（アクセッションNo. NM_003685）に示される塩基配列から実質的になるDNAの全部または一部を含むDNA、配列番号1の塩基番号472～2226から実質的になるDNAの全部または一部を含むDNA等が例示される。

ここで、「実質的になるDNA」とは、上記特定の塩基配列からなるDNAに加えて、ストリンジェントな条件（本発明では、塩基配列において約60%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上の相同性を有するDNAがハイブリダイズし得る条件をいい、ストリンジェンシーはハイブリダイズ反応や洗浄の際の温度、塩濃度等を適宜変化させることにより調節することができる）において、上記の特定塩基配列からなるDNAとハイブリダイズし得る塩基配列からなるDNAを意味する。ストリンジェントな条件は、所望する相同性やオリゴヌクレオチドの長さ等をもとに適宜当分野で利用されている計算式に当てはめて算出することができる。例えば、42℃でのハイブリダイゼーション、及び1×SSC、0.1%のSDSを含む緩衝液による42℃での洗浄処理や、65℃でのハイブリダイゼーション、及び0.1×SSC、0.1%のSDSを含む緩衝液による65℃での洗浄処理等が例示される。

得られたDNAを原核細胞および／または真核細胞の各種の宿主内で複製保持または自律増殖できるプラスミドベクターおよびファージベクター等に適当な制限酵素部位を利用して挿入することによってKS RPまたはその機能的断片をコードする遺伝子を機能的に含有する発現ベクターを得ることができる。

ここで「機能的に」とは、そのベクターに適合する宿主細胞内で該遺

伝子 (DNA) が転写され、それにコードされるタンパク質が産生され得るように該遺伝子が配置されていることを意味する。好ましくは、プロモーター領域、開始コドン、KSRPまたはその機能的断片をコードする遺伝子、終止コドンおよびターミネーター領域が連続的に配列された発現カセットを有するベクターである。形質転換体選択のためには選択マーカー遺伝子をさらに含有することが好ましい。

例えば哺乳動物細胞を形質転換する場合、動物ウイルス、例えばSV40、RSV、MMLV等のプロモーターおよびポリアデニル化シグナルが制限酵素部位、好ましくはマルチクローニング部位を介して連結したプラスミドに、pSV2-neo、pSV2-dhfr等のプラスミド由来の選択マーカー遺伝子 (ネオマイシン耐性遺伝子、ジヒドロ葉酸還元酵素等) を挿入したプラスミドが使用できる。

宿主細胞は使用する発現ベクターに適合し、形質転換され得るものであれば特に限定されず、本発明の技術分野において通常使用される天然細胞或いは人工的に樹立された組換え細胞等種々の細胞が利用できる。具体的には、大腸菌、枯草菌等の細菌、酵母等の真菌類、動物細胞または昆虫細胞等が例示される。好ましくは哺乳動物細胞、特にラット由来細胞、ハムスター由来細胞 (CHO、BHK等)、マウス由来細胞 (COP、L、C127、Sp2/0、NS-1、NIH T3等)、サル由来細胞 (COS1、COS3、COS7、CV1、Velo等) およびヒト由来細胞 (HeLa、2倍体線維芽細胞由来細胞、ミエローマ細胞、Namalwa、Jurkat細胞等) が挙げられる。

発現ベクターの宿主細胞への導入は従来公知の方法を用いて行うことができる。例えば、哺乳動物細胞に導入する場合、リン酸カルシウム共沈澱法、プロトプラスト融合法、マイクロインジェクション法、エレクトロポレーション法、リソソーム法等が挙げられる。

KSRPまたはその機能的断片は上記のごとく調製される発現ベクタ

ーを含む形質転換体を培養することによっても製造することができる。
培地は、宿主細胞（形質転換体）の生育に必要な炭素源、無機もしくは
有機窒素源を含んでいることが好ましい。炭素源としては、例えばグル
コース、デキストリン、可溶性デンプン、ショ糖等が、窒素源としては、
5 例えばアンモニウム塩、硝酸塩、アミノ酸、コーンスチープ・リカー、
ペプトン、カゼイン、肉エキス、大豆粕、馬鈴薯抽出液等が例示される。
また所望により他の栄養素〔例えば、無機塩（塩化カルシウム、リン酸
二水素ナトリウム、塩化マグネシウム等）、ビタミン類、抗生物質（テト
ラサイクリン、ネオマイシン、カナマイシン、アンピシリン等）〕を含ん
10 でいてもよい。

培養は当分野において知られている方法により行われる。培養条件は
タンパク質の発現が可能な条件であって、例えば温度、培地のpHおよ
び培養時間は当該タンパク質が大量に生産されるように適宜選択される。

例えば、宿主が動物細胞である場合、培地としては例えば約5～20%
15 のウシ胎児血清（FCS）を含む最小必須培地（MEM）、ダルベッコ変
法イーグル培地（DMEM）、RPMI-1640培地、199培地等
を用いることができる。培地のpHは約6～8であることが好ましく、培
養は通常30～40℃で約15～72時間行われ、必要により通気や攪
拌を行うこともできる。

20 本発明のKSRPまたはその機能的断片は上記培養により得られる培
養物から、前述のKSRPまたはその機能的断片を発現している細胞あ
るいは組織からの抽出・単離・精製と同様にして採取することができる。

かくして得られたKSRPまたはその機能的断片と、試験化合物との
接触処理は、通常当分野で実施されている結合実験に準じて行うことが
25 できる。具体的にはKSRPまたはその機能的断片、あるいは試験化合
物のいずれかを固相担体に固定化し、KSRPまたはその機能的断片を
固定化した場合には試験化合物を含有する溶液を、試験化合物を固相担

体に固定化した場合にはK S R Pまたはその機能的断片を含有する溶液（精製タンパク質溶液あるいは細胞抽出液や組織抽出液などの粗精製タンパク質溶液）を、該固相担体に接触させる。カラム法やバッチ法等が利用できる。

- 5 試験化合物がK S R Pまたはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程は、試験化合物とK S R Pまたはその機能的断片とを接触させる工程をどのようにして行ったかによって適宜変更し得るが、例えば試験化合物が固定化された固相担体（例えばビーズ樹脂）を充填してなるカラムを用いた場合、続くK S R Pまたはその機能的断片を含有する溶液（試料）の添加により、両者の間に特異的な親和性がある場合にはK S R P分子が固相担体上に結合する（特異的な親和性がない場合には結合しない）。結合したK S R Pまたはその機能的断片を緩衝液の極性を変える、あるいは過剰の試験化合物をさらに加える等の処理によって固相上から解離させ、その後同定したり、あるいは固相上の試験化合物と結合した状態でそのまま界面活性剤等によって抽出して同定したりすることもできる。同定方法としては具体的には電気泳動法、免疫学的反応を用いたイムノブロッティングや免疫沈降法、クロマトグラフィー、マスマススペクトラム、アミノ酸シーケンス、NMR等の公知の手法により、またこれらの方法を組み合わせて実施する。K S R Pまたはその機能的断片が固相上に捕捉されるかあるいはカラムの素通り画分中に含まれるか否か、あるいはその程度等を測定することによって、試験化合物がK S R Pに特異的に結合し得るか否かを判定し、結合する化合物を選択する。

- また、本工程は自動化されていてもよい。例えば2次元電気泳動で得られた種々の分子のデータを直接読み取り、既存のデータベースに基づいて分子の同定を行うことも可能である。

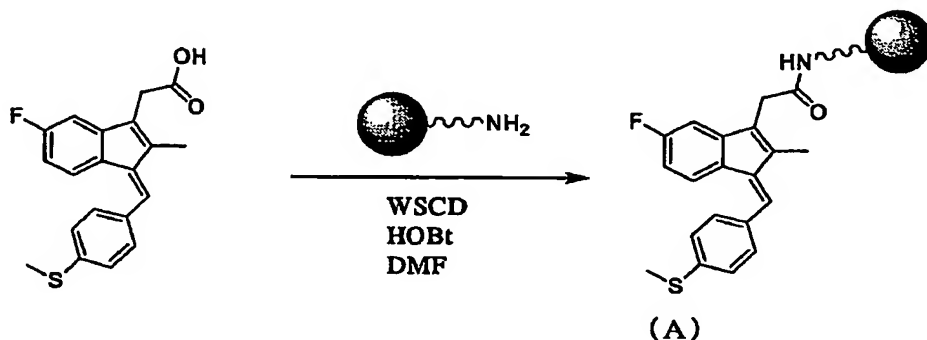
さらに、K S R Pまたはその機能的断片を細胞内で発現した状態で使

用する場合には、R I 標識や蛍光標識等の各種のラベリング技術を駆使してK S R Pまたはその機能的断片と試験化合物との結合の有無、結合の程度を測定することもできる。本発明のスクリーニング方法における「K S R Pまたはその機能的断片と試験化合物との接触」にはこのような態様も含まれる。細胞と試験化合物との接触条件は使用する細胞やK S R Pまたはその機能的断片の細胞内での発現状況等の要因により適宜設定される。また、K S R Pまたはその機能的断片が細胞内で発現しているか否かは抗体等を用いて予め確認しておくことが好ましい。

10 実施例

以下、製造例、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によりなんら限定されるものではない。

製造例 1：スリンダクスルファイド固定化樹脂（A）の合成

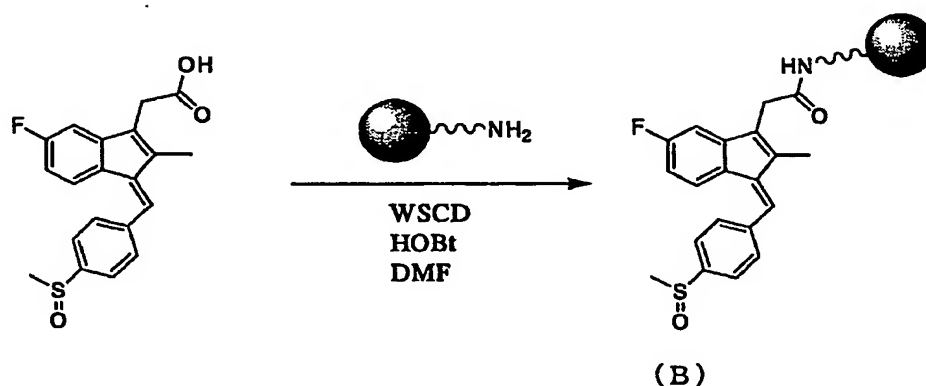


15 TOYOパール（A F - A m i n o - 6 5 0 M）（6 0 0 μ l，6 0 μ m o l；T O S H O、C a t. N O = 0 8 0 3 9）、スリンダクスルファイド（2 0. 4 m g，6 0 μ m o l；S I G M A，C a t. N O. = S - 3 1 3 1）、W S C D（1 1. 6 μ l，6 6 μ m o l；（株）ペプチド研究所、C a t. N P = 1 0 2 0；水溶性カルボジイミド）、H O B t
20（9. 7 m g，7 2 μ m o l；1-ヒドロキシベンゾトリアゾール）を加え、室温にて一昼夜攪拌した。樹脂をDMF（ジメチルホルムアミド）

にて5回洗浄後、ニンヒドリンテストを行った結果、収率93%にて目的の化合物を得た。

引き続き、20%無水酢酸DMF溶液5mlを加え30分間室温にて攪拌し、残りのアミノ基をアセチル基にてキャッピングした。20%エタノール溶液5mlにて洗浄し、目的の化合物(A)を得た。

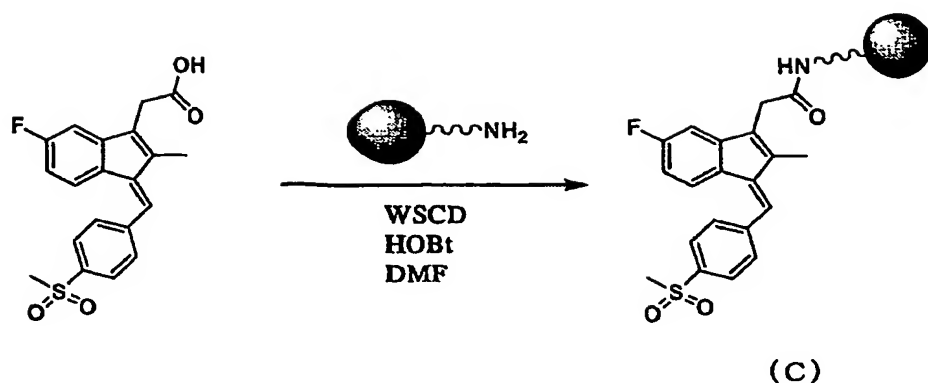
製造例2：スリンダク固定化樹脂(B)の合成



TOYOパール(AF-Amino)(600 μ l, 60 μ mol)、スリンダク(21.4mg, 60 μ mol; SIGMA Cat. NO = S-8139)、WSCD(11.6 μ l, 66 μ mol)、HOBT(9.7mg, 72 μ mol)を加え、室温にて一昼夜攪拌した。樹脂をDMFにて5回洗浄後、ニンヒドリンテストを行った結果、収率92%にて目的の化合物を得た。

引き続き、20%無水酢酸DMF溶液5mlを加え30分間室温にて攪拌し、残りのアミノ基をアセチル基にてキャッピングした。20%エタノール溶液5mlにて洗浄し、目的の化合物(B)を得た。

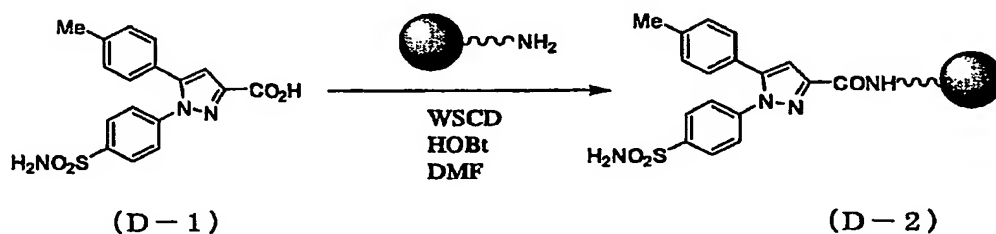
製造例3：スリンダクスルホン固定化樹脂(C)の合成



TOYOパール (AF-Amino) ($600\ \mu\text{l}$, $60\ \mu\text{mol}$)、スリンダクスルホン ($22.3\ \text{mg}$, $60\ \mu\text{mol}$; SIGMA Cat. NO=S-1438)、WSCD ($11.6\ \mu\text{l}$, $66\ \mu\text{mol}$)、
 5 HOBt ($9.7\ \text{mg}$, $72\ \mu\text{mol}$) を加え、室温にて一昼夜攪拌した。樹脂をDMFにて5回洗浄後、ニンヒドリンテストを行った結果、収率87%にて目的の化合物を得た。

引き続き、20%無水酢酸DMF溶液5mlを加え30分間室温にて攪拌し、残りのアミノ基をアセチル基にてキャッピングした。20%エ
 10 タノール溶液5mlにて洗浄し、目的の化合物 (C) を得た。

製造例4：セレコキシブ誘導体固定化樹脂 (D-2) の合成

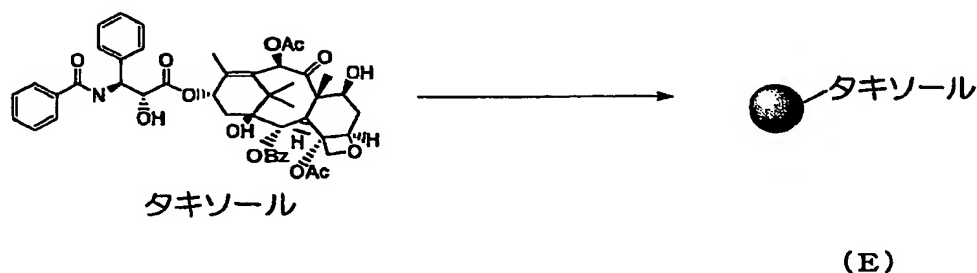


TOYOパール (AF-Amino)、化合物D-1 (J. Med. Chem. 1997, 40, 1347-1365の記載に従い合成) ($21.4\ \text{mg}$, $60\ \mu\text{mol}$)、WSCD ($11.6\ \mu\text{l}$, $66\ \mu\text{mol}$)、H
 15

O B t (9 . 7 m g , 7 2 μ m o l) を加え、室温にて一昼夜攪拌した。
樹脂をDMFにて5回洗浄後、ニンヒドリンテストを行った結果、収率
9 2 % にて目的の化合物を得た。

引き続き、2 0 % 無水酢酸DMF溶液5 m l を加え3 0 分間室温にて
5 攪拌し、残りのアミノ基をアセチル基にてキャッピングした。2 0 % エ
タノール溶液5 m l にて洗浄し、目的の化合物 (D - 2) を得た。

製造例 5 : タキソール固定化樹脂 (E) の合成



タキソール (3 5 m g , 4 1 μ m o l ; W A K O , C a t . N O =
10 1 6 3 - 1 8 6 1 4) をアセトニトリル (2 m l) に溶解し、0℃に冷
却した後、フォスゲン／トルエン溶液 (1 . 2 4 m m o l / m l , 3 .
3 m l) 及びジイソプロピルエチルアミン (4 2 μ l , 2 4 0 μ m o l)
を加えた。反応液を室温で1時間攪拌した後、溶媒を減圧留去した。残
渣をアセトニトリルに溶解し、この溶液をT O Y O パール (T S K g e
15 1 A F - a m i n o ; 1 0 0 μ l 中に0 . 0 1 m m o l のアミンが存
在) 1 0 0 μ l に加えて、更にジイソプロピルエチルアミン (4 2 μ l ,
2 4 0 μ m o l) を加えて終夜室温で振とうした。反応終了後、樹脂を
アセトニトリル、蒸留水の順に十分に洗浄した後、飽和炭酸水素ナトリ
ウム水 (1 . 2 m l) を加えて室温で3 0 分間振とうし、その後、樹脂
20 を蒸留水、アセトニトリルの順に十分に洗浄した。ニンヒドリンテスト
よりタキソールの導入率は約7 5 % であった。この樹脂に無水酢酸／D

MF (1 / 4) の混合溶液 (1. 0 ml) を加えて室温で 30 分間振とうした。反応終了後、樹脂を DMF 及び 20 エタノール水で十分に洗浄してタキソール固定化樹脂 (E) を得た。

実施例 1

5 (1-1) ラット脳ライセートの調製

ラットの脳 (2. 4 g) を混合液 A (25 mM Tris-HCl pH 8. 0, 0. 5% Tween 20, 300 μ M DCC (24 ml; N, N-ジエチルジチオカルバメート ナトリウム)) に混ぜ、ホモジネートを作成し、9, 000 rpm で 10 分間遠心分離した。遠心分離上清を取り、50, 000 rpm で更に 30 分間遠心分離した。こうして得られた上清をライセートとして使用した。なお、実験はすべて 4℃あるいは氷上で行った。

(1-2) 結合実験

製造例 1 ~ 5 で調製した各試験化合物が固定化された固定化樹脂および実施例 1 (1-1) で調製したラット脳ライセートを用い、下記に示す手順で結合実験を行った。

樹脂 (10 μ l) とライセート (1 ml) を 4℃で約 1 時間、静かに振とうした。その後、遠心分離操作を行い、各々の上澄みを注意深く採集した。そして、各上澄み液を再びフレッシュな化合物結合樹脂 (10 μ l) と混合した。この時、分離した化合物結合樹脂を 1 回目の結合実験樹脂として 4℃にて静かに保存しておく。3 時間ほど静かに攪拌した後に、遠心分離操作を行い、上澄み液を除去した。こうして 2 回目の結合実験で得られた化合物結合樹脂と 1 回目で得られた樹脂とを混合液 A にて 5 回程度丁寧に洗浄し、樹脂上に結合するタンパク質以外を出来る限り除いた。こうして得られた各化合物結合樹脂に 25 μ l の SDS loading buffer (nakalai Cat. NO=30566-22、電気泳動用 sample buffer soluti

on with 2-ME (2-mercaptoethanol)
(2x) for SDS PAGE) を加え、25℃で10分間攪拌した。こうして得られたサンプル液を市販のSDSゲル (BioRad readyGel J, 15% SDS, Cat. NO=161-J34
5 1) で分離し、そのSDSゲルを解析した (図1)。1回目で得られた結合樹脂上に結合するタンパク質を含むサンプル液の電気泳動像 (図1中、便宜上 (-) と標記)、および2回目で得られた結合樹脂上に結合するタンパク質を含むサンプル液の電気泳動像 (図1中、便宜上 (+) と標記) とを比較した。

10 その結果、スリダクスルファイドを固定した樹脂以外の4化合物を固定化した樹脂にMART A 1 (KSRPと高い相同性を有するラットのタンパク質。homology=98%。J. Neurochem., 82(5), 1039-46 (2002)) が結合し、しかもその結合は、化合物結合樹脂との1回目の結合実験で顕著に確認され、2回目の結合
15 実験では殆ど観察されないことから特異的な結合であることが示された。なお、宿主細胞に発現させたヒト型のKSRPタンパク質 (部分タンパク質127-711; 配列番号3) を用いた場合にも同様の結果を得ることが出来た。

20 産業上の利用可能性

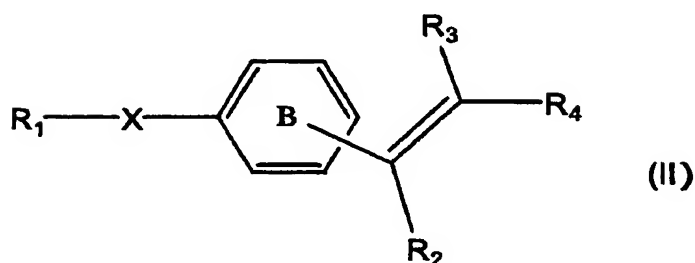
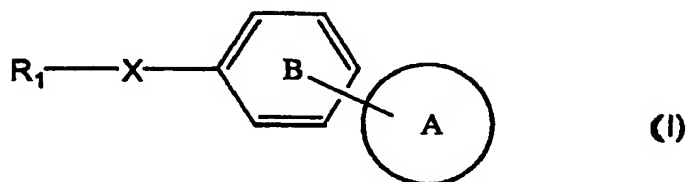
これまで得られてきたNSAIDs誘導体が元来抗炎症作用を指標としスクリーニングされ創出されてきたことから、より抗癌作用と一致した挙動を示すKSRPに対する作用を指標として再スクリーニングすることにより、抗炎症作用のみならず癌に対しても有用な化合物を得ること
25 ができる。

本出願は、日本で出願された特願2003-401132 (出願日:

2003年12月1日)を基礎としており、その内容は本明細書に全て
包含されるものである。

請求の範囲

1. 一般式 (I) または一般式 (II) で表わされる化合物またはその医薬上許容され得る塩：



5 (式中、Xは



であり；

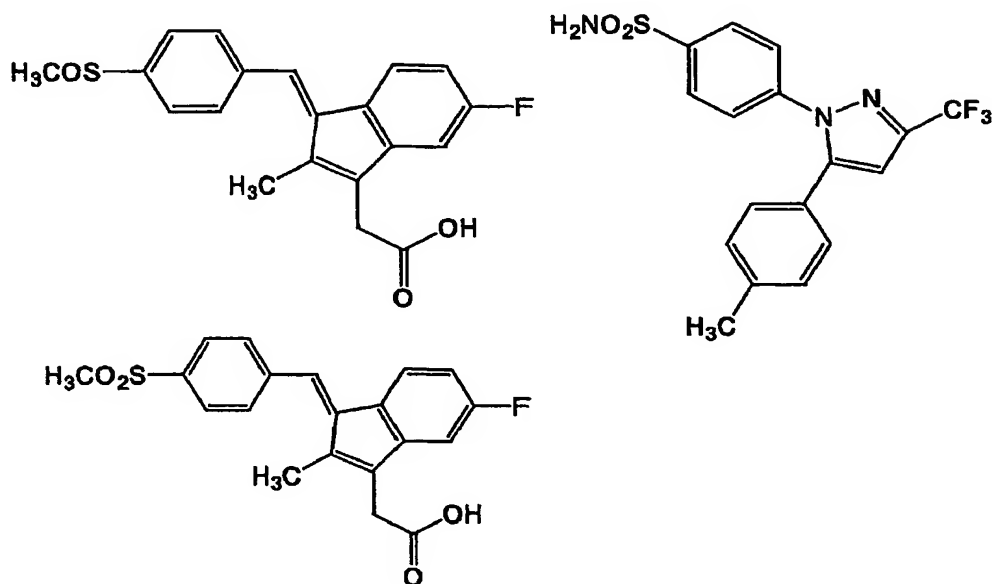
環Aは、置換されていてもよい、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基または飽和もしくは不飽和の複素環基であり；

10 環Bは、さらに1乃至4個の置換基を有していてもよいベンゼン環であり；

R₁は置換されていてもよい低級アルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換アミド基または置換されていてもよいアミノ基であり；

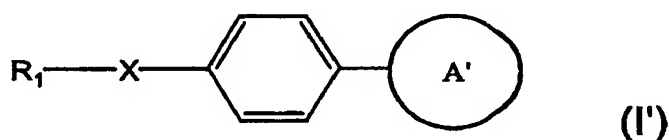
R₂～R₄は同一または異なって、水素原子、飽和もしくは不飽和の炭化

水素基あるいは飽和もしくは不飽和の複素環基である (R_3 および R_4 は結合して環を形成してもよい))、但し以下の化合物は除く。



2. 式 (I) で表わされる化合物が式 (I') で表わされる化合物である、

5 請求の範囲 1 記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩：



(式中、環 A' は、置換されていてもよい飽和もしくは不飽和の複素環基であり；それ以外の記号は請求の範囲 1 と同義である)。

3. 一般式 (I') 中、環 A' が、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基、
 10 飽和もしくは不飽和の複素環基、カルボキシ基、置換アミド基および置換されていてもよい低級アルキル基からなる群より選択される少なくとも 1 つの置換基で置換されていてもよい、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基または飽和もしくは不飽和の複素環基である、請求の範囲 2 記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

4. 一般式 (I') 中、環 A' が、飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基、および飽和もしくは不飽和の複素環基からなる群より選択されるいずれか 1 つの置換基と、カルボキシ基、置換アミド基および置換されていてもよい低級アルキル基からなる群より選択されるいずれか 1 つの置換基を有する飽和もしくは不飽和の複素環基である、請求の範囲 2 記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

5. 一般式 (II) 中、R₃ および R₄ が結合して形成される環が、カルボキシ基、置換アミド基および置換されていてもよい低級アルキル基からなる群より選択される少なくとも 1 つの置換基を有していてもよい飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基または飽和もしくは不飽和の複素環基である、請求の範囲 1 記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

6. 一般式 (II) 中、R₃ および R₄ が結合して形成される環が、カルボキシ基、置換アミド基および置換されていてもよい低級アルキル基からなる群より選択される少なくとも 1 つの置換基を有していてもよい飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基である請求の範囲 5 記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

7. 飽和もしくは不飽和の環状炭化水素基がインデンである、請求の範囲 6 記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩。

8. 請求の範囲 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその医薬上許容され得る塩を有効成分として含有する医薬組成物。

9. 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療用である、請求の範囲 8 記載の医薬組成物。

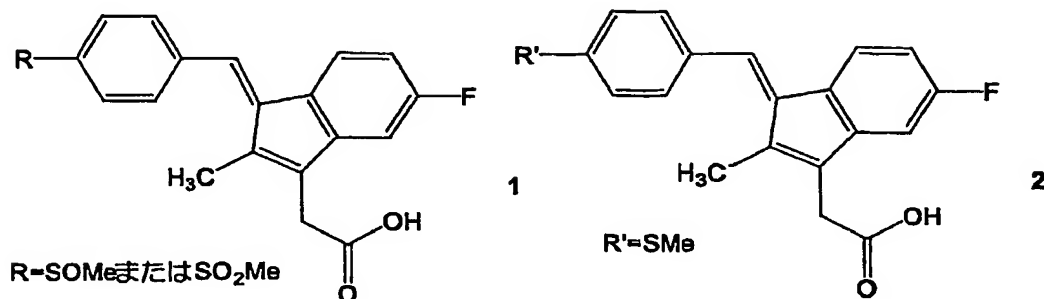
10. 配列番号 2 のアミノ酸配列を有するタンパク質と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

11. 配列番号 2 のアミノ酸配列において、1 または 2 以上のアミノ酸を欠失、置換若しくは付加してなるアミノ酸配列を有し且つ以下の特徴

を有するタンパク質と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物；

(i) 式 1 化合物と結合する

(ii) 式 2 化合物と結合しない



5

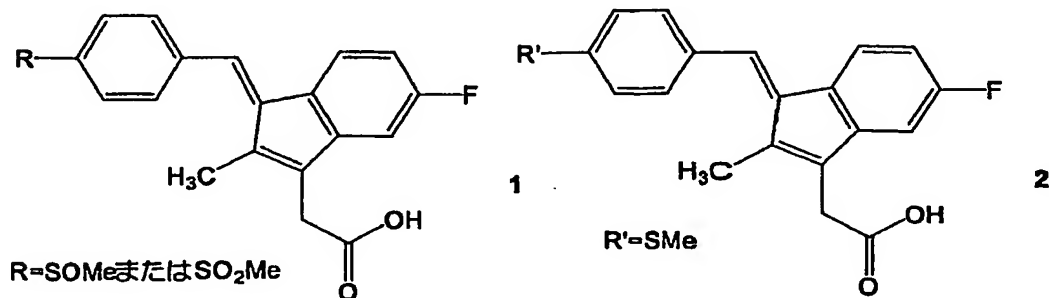
1 2. 配列番号 3 のアミノ酸配列を有するタンパク質と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

1 3. 配列番号 3 のアミノ酸配列において、1 または 2 以上のアミノ酸を欠失、置換若しくは付加してなるアミノ酸配列を有し且つ以下の特徴

10 を有するタンパク質と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物；

(i) 式 1 化合物と結合する

(ii) 式 2 化合物と結合しない



15 1 4. 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される

疾患の治療用である、請求の範囲 10～13 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

15 15. 増殖性疾患が、家族性大腸腺腫症、食道癌、小細胞肺癌、前立腺癌、乳癌、非小細胞性癌および卵巣癌からなる群より選択される少なくとも 1 種である、請求の範囲 14 記載の医薬組成物。

16. KSRP と特異的に結合する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

17. KSRP の発現を制御する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

10 18. KSRP の活性を制御する化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

19. 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療用である、請求の範囲 16～18 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

15 20. 増殖性疾患が、家族性大腸腺腫症、食道癌、小細胞肺癌、前立腺癌、乳癌、非小細胞性癌および卵巣癌からなる群より選択される少なくとも 1 種である、請求の範囲 19 記載の医薬組成物。

21. 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以

20 下の工程を含む方法；

(1) KSRP またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

(2) 該試験化合物が、KSRP またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

25 (3) 上記 (2) の工程において KSRP またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

22. 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以

下の工程を含む方法；

(1) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有するタンパク質またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

5 (2) 該試験化合物が、該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

(3) 上記 (2) の工程において該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

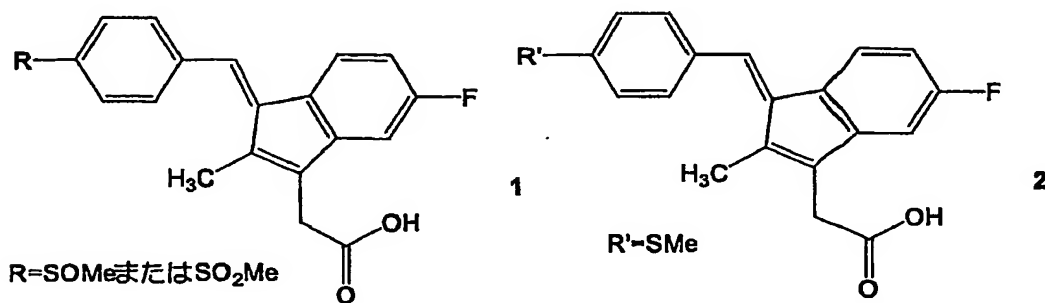
23. 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以

10 下の工程を含む方法；

(1) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、1 または 2 以上のアミノ酸を欠失、置換または付加してなるアミノ酸配列を有し且つ以下の特徴

(i) 式 1 化合物と結合する

(ii) 式 2 化合物と結合しない



15

を有するタンパク質またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

(2) 該試験化合物が、該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

20 (3) 上記 (2) の工程において該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

24. 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以下の工程を含む方法；

(1) 配列番号3のアミノ酸配列を有するタンパク質またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

(2) 該試験化合物が、該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

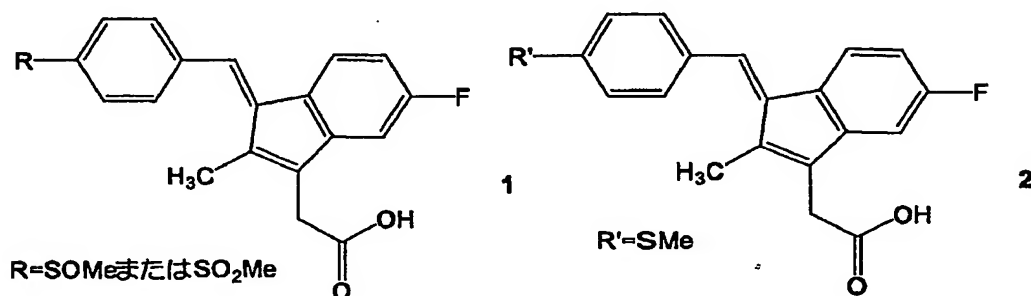
(3) 上記(2)の工程において該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

25. 増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群より選択される疾患の治療に有用な化合物をスクリーニングする為の方法であって、以下の工程を含む方法；

(1) 配列番号3のアミノ酸配列において、1または2以上のアミノ酸を欠失、置換または付加してなるアミノ酸配列を有し、且つ以下の特徴

(i) 式1化合物と結合する

(ii) 式2化合物と結合しない



を有するタンパク質またはその機能的断片を試験化合物に接触させる工程、

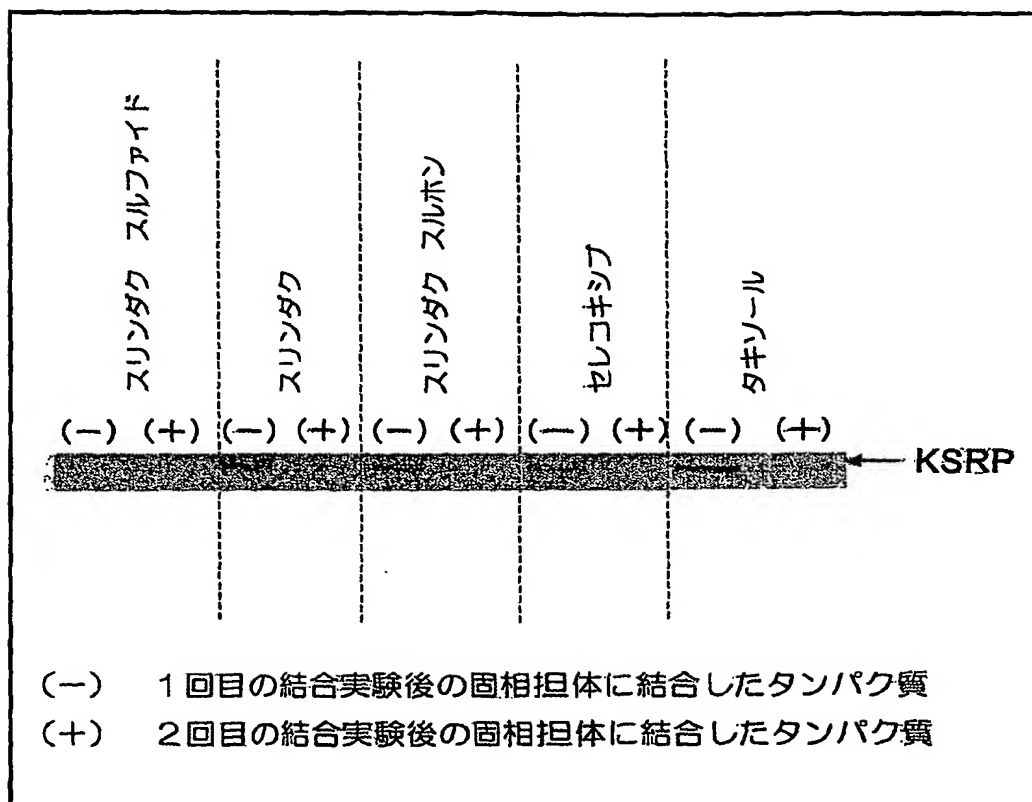
(2) 該試験化合物が、該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合するか否かを判定する工程、および

(3) 上記(2)の工程において該タンパク質またはその機能的断片に特異的に結合する試験化合物を選択する工程。

26. 請求の範囲21～25のいずれか1項に記載のスクリーニング方法によって得られる増殖性疾患、炎症性疾患および脳疾患からなる群よ

5 り選択される疾患の治療に有用な化合物。

図 1



1/17

SEQUENCE LISTING

<110> REVERSE PROTEOMICS RESEARCH INSTITUTE CO., LTD.

<120> novel target protein of anticancer agents and corresponding novel anticancer agent (SPNAL)

<130> 09702

<150> JP 2003-401132

<151> 2003-12-1

<160> 3

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 3009

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (94).. (2229)

<223>

<400> 1

tgtggagcga agccttggtc ccgcgttgag ccgcgcgcgc cgccgccgcc tcctcagctt 60

cagcctccgc gccaggcccg gccccgccgc gcc atg tcg gac tac agc acg gga 114

Met Ser Asp Tyr Ser Thr Gly

1

5

gga ccc ccg ccc ggg ccg ccg ccg ccc gcc ggc ggg ggc ggg gga gcc 162

Gly Pro Pro Pro Gly Pro Pro Pro Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ala

10

15

20

2/17

gga ggc gcc ggg gga ggc cct ccg ccg ggc ccg cca ggc gcg ggg gac	210
Gly Gly Ala Gly Gly Gly Pro Pro Pro Gly Pro Pro Gly Ala Gly Asp	
25 30 35	
cgg ggc ggc ggc ggt ccc tgc ggc ggc ggc ccg ggc ggg ggg tcg gcc	258
Arg Gly Gly Gly Gly Pro Cys Gly Gly Gly Pro Gly Gly Gly Ser Ala	
40 45 50 55	
ggg ggc ccc tct cag cca ccc ggc gga ggc ggc ccg gga atc cgc aag	306
Gly Gly Pro Ser Gln Pro Pro Gly Gly Gly Gly Pro Gly Ile Arg Lys	
60 65 70	
gac gct ttc gcc gac gcc gtg cag cgg gcc cgc cag att gca gcc aaa	354
Asp Ala Phe Ala Asp Ala Val Gln Arg Ala Arg Gln Ile Ala Ala Lys	
75 80 85	
att gga ggc gat gct gcc acg aca gtg aat aac agc act cct gat ttt	402
Ile Gly Gly Asp Ala Ala Thr Thr Val Asn Asn Ser Thr Pro Asp Phe	
90 95 100	
ggt ttt ggg ggc caa aag aga cag ttg gaa gat gga gat caa ccg gag	450
Gly Phe Gly Gly Gln Lys Arg Gln Leu Glu Asp Gly Asp Gln Pro Glu	
105 110 115	
agc aag aag ctg gct tcc cag gga gac tca atc agt tct caa ctt gga	498
Ser Lys Lys Leu Ala Ser Gln Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gln Leu Gly	
120 125 130 135	
ccc atc cat cct ccc cca agg act tca atg aca gaa gag tac agg gtc	546
Pro Ile His Pro Pro Pro Arg Thr Ser Met Thr Glu Glu Tyr Arg Val	
140 145 150	
cca gac ggc atg gtg ggc ctg atc att ggc aga gga ggt gaa caa att	594
Pro Asp Gly Met Val Gly Leu Ile Ile Gly Arg Gly Gly Glu Gln Ile	
155 160 165	

3/17

aac aaa atc caa cag gat tca ggc tgc aaa gta cag att tct cca gac	642
Asn Lys Ile Gln Gln Asp Ser Gly Cys Lys Val Gln Ile Ser Pro Asp	
170 175 180	
agc ggt ggc cta ccc gag cgc agt gtg tcc ttg aca gga gcc cca gaa	690
Ser Gly Gly Leu Pro Glu Arg Ser Val Ser Leu Thr Gly Ala Pro Glu	
185 190 195	
tct gtc cag aaa gcc aag atg atg ctg gat gac att gtg tct cgg ggt	738
Ser Val Gln Lys Ala Lys Met Met Leu Asp Asp Ile Val Ser Arg Gly	
200 205 210 215	
cgt ggg ggc ccc cca gga cag ttc cac gac aac gcc aac ggg ggc cag	786
Arg Gly Gly Pro Pro Gly Gln Phe His Asp Asn Ala Asn Gly Gly Gln	
220 225 230	
aac ggc acc gtg cag gag atc atg atc ccc gcg ggc aag gcc ggc ctg	834
Asn Gly Thr Val Gln Glu Ile Met Ile Pro Ala Gly Lys Ala Gly Leu	
235 240 245	
gtc att ggc aag ggc ggg gag acc att aag cag ctg cag gaa cgc gct	882
Val Ile Gly Lys Gly Gly Glu Thr Ile Lys Gln Leu Gln Glu Arg Ala	
250 255 260	
gga gtg aag atg atc tta att cag gac gga tct cag aat acg aat gtg	930
Gly Val Lys Met Ile Leu Ile Gln Asp Gly Ser Gln Asn Thr Asn Val	
265 270 275	
gac aaa cct ctc cgc atc att ggg gat cct tac aaa gtg cag caa gcc	978
Asp Lys Pro Leu Arg Ile Ile Gly Asp Pro Tyr Lys Val Gln Gln Ala	
280 285 290 295	
tgt gag atg gtg atg gac atc ctc cgg gaa cgt gac caa ggc ggc ttt	1026
Cys Glu Met Val Met Asp Ile Leu Arg Glu Arg Asp Gln Gly Gly Phe	
300 305 310	

4/17

ggg gac cgg aat gag tac gga tct cgg att ggc gga ggc atc gat gtg	1074
Gly Asp Arg Asn Glu Tyr Gly Ser Arg Ile Gly Gly Gly Ile Asp Val	
315 320 325	
cca gtg ccc agg cat tct gtt ggc gtg gtc att ggc cgg agt gga gag	1122
Pro Val Pro Arg His Ser Val Gly Val Val Ile Gly Arg Ser Gly Glu	
330 335 340	
atg atc aag aag atc cag aat gat gct ggc gtg cgg ata cag ttc aag	1170
Met Ile Lys Lys Ile Gln Asn Asp Ala Gly Val Arg Ile Gln Phe Lys	
345 350 355	
caa gat gac ggg aca ggg ccc gag aag att gct cat ata atg ggg ccc	1218
Gln Asp Asp Gly Thr Gly Pro Glu Lys Ile Ala His Ile Met Gly Pro	
360 365 370 375	
cca gac agg tgc gag cac gca gcc cgg atc atc aac gac ctc ctc cag	1266
Pro Asp Arg Cys Glu His Ala Ala Arg Ile Ile Asn Asp Leu Leu Gln	
380 385 390	
agc ctc agg agt ggt ccc cca ggt cct cca ggg ggt cca ggc atg ccc	1314
Ser Leu Arg Ser Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Gly Pro Gly Met Pro	
395 400 405	
ccg ggg ggc cga ggc cga gga aga ggc caa ggc aat tgg ggt ccc cct	1362
Pro Gly Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly Gln Gly Asn Trp Gly Pro Pro	
410 415 420	
ggc ggg gag atg acc ttc tcc atc ccc act cac aag tgt ggg ctg gtc	1410
Gly Gly Glu Met Thr Phe Ser Ile Pro Thr His Lys Cys Gly Leu Val	
425 430 435	
atc ggc cga ggt ggc gag aat gtg aaa gcc ata aac cag cag acg gga	1458
Ile Gly Arg Gly Gly Glu Asn Val Lys Ala Ile Asn Gln Gln Thr Gly	
440 445 450 455	

5/17

gcc ttc gta gag atc tcc cgg cag ctg cca ccc aac ggg gac ccc aac	1506
Ala Phe Val Glu Ile Ser Arg Gln Leu Pro Pro Asn Gly Asp Pro Asn	
460 465 470	
ttc aag ttg ttc atc atc cgg ggt tca ccc cag cag att gac cac gcc	1554
Phe Lys Leu Phe Ile Ile Arg Gly Ser Pro Gln Gln Ile Asp His Ala	
475 480 485	
aag cag ctt atc gag gaa aag atc gag ggt cct ctc tgc cca gtt gga	1602
Lys Gln Leu Ile Glu Glu Lys Ile Glu Gly Pro Leu Cys Pro Val Gly	
490 495 500	
cca ggc cca ggt ggc cca ggc cct gct ggc cca atg ggg ccc ttc aat	1650
Pro Gly Pro Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Pro Met Gly Pro Phe Asn	
505 510 515	
cct ggg ccc ttc aac cag ggg cca ccc ggg gct ccc cca cat gcc ggg	1698
Pro Gly Pro Phe Asn Gln Gly Pro Pro Gly Ala Pro Pro His Ala Gly	
520 525 530 535	
ggg ccc cct cct cac cag tac cca ccc cag ggc tgg ggc aat acc tac	1746
Gly Pro Pro Pro His Gln Tyr Pro Pro Gln Gly Trp Gly Asn Thr Tyr	
540 545 550	
ccc cag tgg cag ccg cct gct cct cat gac cca agc aaa gca gct gca	1794
Pro Gln Trp Gln Pro Pro Ala Pro His Asp Pro Ser Lys Ala Ala Ala	
555 560 565	
gcg gcc gcg gac ccc aac gcc gcg tgg gcc gcc tac tac tca cac tac	1842
Ala Ala Ala Asp Pro Asn Ala Ala Trp Ala Ala Tyr Tyr Ser His Tyr	
570 575 580	
tac cag cag ccc ccg ggc ccc gtc ccc ggc ccc gca ccg gcc cct gcg	1890
Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Pro Val Pro Gly Pro Ala Pro Ala Pro Ala	
585 590 595	

6/17

gcc cca ccg gct cag ggt gag ccc cct cag ccc cca ccc acc ggc cag	1938
Ala Pro Pro Ala Gln Gly Glu Pro Pro Gln Pro Pro Pro Thr Gly Gln	
600 605 610 615	
tcg gac tac act aag gcc tgg gaa gag tat tac aaa aag atc ggc cag	1986
Ser Asp Tyr Thr Lys Ala Trp Glu Glu Tyr Tyr Lys Lys Ile Gly Gln	
620 625 630	
cag ccc cag cag ccc gga gcg ccc cca cag cag gac tac acg aag gct	2034
Gln Pro Gln Gln Pro Gly Ala Pro Pro Gln Gln Asp Tyr Thr Lys Ala	
635 640 645	
tgg gag gag tac tac aag aag caa gcg caa gtg gcc acc gga ggg ggt	2082
Trp Glu Glu Tyr Tyr Lys Lys Gln Ala Gln Val Ala Thr Gly Gly Gly	
650 655 660	
cca gga gct ccc cca ggc tcc cag cca gac tac agt gcc gcc tgg gcg	2130
Pro Gly Ala Pro Pro Gly Ser Gln Pro Asp Tyr Ser Ala Ala Trp Ala	
665 670 675	
gaa tat tac aga cag cag gcc gct tac tac gga cag acc cca ggt cct	2178
Glu Tyr Tyr Arg Gln Gln Ala Ala Tyr Tyr Gly Gln Thr Pro Gly Pro	
680 685 690 695	
ggc ggc ccc cag ccg ccg ccc acg cag cag gga cag cag cag gct caa	2226
Gly Gly Pro Gln Pro Pro Pro Thr Gln Gln Gly Gln Gln Gln Ala Gln	
700 705 710	
tga atcgaatgaa tgtgaacttc ttcattctgtg aaaaatcttt tttttttcca	2279
ttttgttctg tttgggggct tctgttttgt ttggcgagag agcgatgggtg ccgtggggag	2339
tactggggag ccctcgcggc aagcaggggtg ggggggactt gggggcatgc cgggccctca	2399
ctctctcgcc tgttctgtgt ctacatgct ttttctttca aaattgggat ctttccatgt	2459

7/17

tgagccagcc agagaagata gcgagatcta aatctctgcc aaaaaaaaaa aaaacttaaa 2519
 aattaaaaac acaaagagca aagcagaact tataaaatta tatatatata tattaanaag 2579
 tctctattct tcacccccca gccttcctga acctgcctct ctgaggataa agcaattcat 2639
 tttctccac cctcgccct cttgttttta aaataaactt ttaaaaagga aaaaaaaaaag 2699
 tcactcttgc tatttctttt ttttagttag aggtggaaca ttccttggac caggtgttgt 2759
 attgcaggac cccttcccc agcagccaag cccctcttc tctccctccc gccctggctc 2819
 agctcccgcg gccccgcccg tccccctcc caggactggt ctgttgtctt ttcctctgtt 2879
 caagaggaga ttgaaactga aaacaaaatg agaacaacaa aaaaaattgt atggcagttt 2939
 ttacttttta tcgctcgttt ttaacttcac aaataaatga taacaaaacc tcaaaaaaaaa 2999
 aaaaaaaaaa 3009

<210> 2

<211> 711

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ser Asp Tyr Ser Thr Gly Gly Pro Pro Pro Gly Pro Pro Pro Pro
 1 5 10 15

Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gly Pro Pro Pro
 20 25 30

8/17

Gly Pro Pro Gly Ala Gly Asp Arg Gly Gly Gly Gly Pro Cys Gly Gly
35 40 45

Gly Pro Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Pro Ser Gln Pro Pro Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Pro Gly Ile Arg Lys Asp Ala Phe Ala Asp Ala Val Gln Arg
65 70 75 80

Ala Arg Gln Ile Ala Ala Lys Ile Gly Gly Asp Ala Ala Thr Thr Val
85 90 95

Asn Asn Ser Thr Pro Asp Phe Gly Phe Gly Gly Gln Lys Arg Gln Leu
100 105 110

Glu Asp Gly Asp Gln Pro Glu Ser Lys Lys Leu Ala Ser Gln Gly Asp
115 120 125

Ser Ile Ser Ser Gln Leu Gly Pro Ile His Pro Pro Pro Arg Thr Ser
130 135 140

Met Thr Glu Glu Tyr Arg Val Pro Asp Gly Met Val Gly Leu Ile Ile
145 150 155 160

Gly Arg Gly Gly Glu Gln Ile Asn Lys Ile Gln Gln Asp Ser Gly Cys
165 170 175

9/17

Lys Val Gln Ile Ser Pro Asp Ser Gly Gly Leu Pro Glu Arg Ser Val
180 185 190

Ser Leu Thr Gly Ala Pro Glu Ser Val Gln Lys Ala Lys Met Met Leu
195 200 205

Asp Asp Ile Val Ser Arg Gly Arg Gly Gly Pro Pro Gly Gln Phe His
210 215 220

Asp Asn Ala Asn Gly Gly Gln Asn Gly Thr Val Gln Glu Ile Met Ile
225 230 235 240

Pro Ala Gly Lys Ala Gly Leu Val Ile Gly Lys Gly Gly Glu Thr Ile
245 250 255

Lys Gln Leu Gln Glu Arg Ala Gly Val Lys Met Ile Leu Ile Gln Asp
260 265 270

Gly Ser Gln Asn Thr Asn Val Asp Lys Pro Leu Arg Ile Ile Gly Asp
275 280 285

Pro Tyr Lys Val Gln Gln Ala Cys Glu Met Val Met Asp Ile Leu Arg
290 295 300

Glu Arg Asp Gln Gly Gly Phe Gly Asp Arg Asn Glu Tyr Gly Ser Arg
305 310 315 320

10/17

Ile Gly Gly Gly Ile Asp Val Pro Val Pro Arg His Ser Val Gly Val
325 330 335

Val Ile Gly Arg Ser Gly Glu Met Ile Lys Lys Ile Gln Asn Asp Ala
340 345 350

Gly Val Arg Ile Gln Phe Lys Gln Asp Asp Gly Thr Gly Pro Glu Lys
355 360 365

Ile Ala His Ile Met Gly Pro Pro Asp Arg Cys Glu His Ala Ala Arg
370 375 380

Ile Ile Asn Asp Leu Leu Gln Ser Leu Arg Ser Gly Pro Pro Gly Pro
385 390 395 400

Pro Gly Gly Pro Gly Met Pro Pro Gly Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gly
405 410 415

Gln Gly Asn Trp Gly Pro Pro Gly Gly Glu Met Thr Phe Ser Ile Pro
420 425 430

Thr His Lys Cys Gly Leu Val Ile Gly Arg Gly Gly Glu Asn Val Lys
435 440 445

Ala Ile Asn Gln Gln Thr Gly Ala Phe Val Glu Ile Ser Arg Gln Leu
450 455 460

11/17

Pro Pro Asn Gly Asp Pro Asn Phe Lys Leu Phe Ile Ile Arg Gly Ser
465 470 475 480

Pro Gln Gln Ile Asp His Ala Lys Gln Leu Ile Glu Glu Lys Ile Glu
485 490 495

Gly Pro Leu Cys Pro Val Gly Pro Gly Pro Gly Gly Pro Gly Pro Ala
500 505 510

Gly Pro Met Gly Pro Phe Asn Pro Gly Pro Phe Asn Gln Gly Pro Pro
515 520 525

Gly Ala Pro Pro His Ala Gly Gly Pro Pro Pro His Gln Tyr Pro Pro
530 535 540

Gln Gly Trp Gly Asn Thr Tyr Pro Gln Trp Gln Pro Pro Ala Pro His
545 550 555 560

Asp Pro Ser Lys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Asp Pro Asn Ala Ala Trp
565 570 575

Ala Ala Tyr Tyr Ser His Tyr Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Pro Val Pro
580 585 590

Gly Pro Ala Pro Ala Pro Ala Ala Pro Pro Ala Gln Gly Glu Pro Pro
595 600 605

12/17

Gln Pro Pro Pro Thr Gly Gln Ser Asp Tyr Thr Lys Ala Trp Glu Glu
610 615 620

Tyr Tyr Lys Lys Ile Gly Gln Gln Pro Gln Gln Pro Gly Ala Pro Pro
625 630 635 640

Gln Gln Asp Tyr Thr Lys Ala Trp Glu Glu Tyr Tyr Lys Lys Gln Ala
645 650 655

Gln Val Ala Thr Gly Gly Gly Pro Gly Ala Pro Pro Gly Ser Gln Pro
660 665 670

Asp Tyr Ser Ala Ala Trp Ala Glu Tyr Tyr Arg Gln Gln Ala Ala Tyr
675 680 685

Tyr Gly Gln Thr Pro Gly Pro Gly Gly Pro Gln Pro Pro Pro Thr Gln
690 695 700

Gln Gly Gln Gln Gln Ala Gln
705 710

<210> 3

<211> 585

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

13/17

Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gln Leu Gly Pro Ile His Pro Pro Pro Arg
1 5 10 15

Thr Ser Met Thr Glu Glu Tyr Arg Val Pro Asp Gly Met Val Gly Leu
20 25 30

Ile Ile Gly Arg Gly Gly Glu Gln Ile Asn Lys Ile Gln Gln Asp Ser
35 40 45

Gly Cys Lys Val Gln Ile Ser Pro Asp Ser Gly Gly Leu Pro Glu Arg
50 55 60

Ser Val Ser Leu Thr Gly Ala Pro Glu Ser Val Gln Lys Ala Lys Met
65 70 75 80

Met Leu Asp Asp Ile Val Ser Arg Gly Arg Gly Gly Pro Pro Gly Gln
85 90 95

Phe His Asp Asn Ala Asn Gly Gly Gln Asn Gly Thr Val Gln Glu Ile
100 105 110

Met Ile Pro Ala Gly Lys Ala Gly Leu Val Ile Gly Lys Gly Gly Glu
115 120 125

Thr Ile Lys Gln Leu Gln Glu Arg Ala Gly Val Lys Met Ile Leu Ile
130 135 140

14/17

Gln Asp Gly Ser Gln Asn Thr Asn Val Asp Lys Pro Leu Arg Ile Ile
145 150 155 160

Gly Asp Pro Tyr Lys Val Gln Gln Ala Cys Glu Met Val Met Asp Ile
165 170 175

Leu Arg Glu Arg Asp Gln Gly Gly Phe Gly Asp Arg Asn Glu Tyr Gly
180 185 190

Ser Arg Ile Gly Gly Gly Ile Asp Val Pro Val Pro Arg His Ser Val
195 200 205

Gly Val Val Ile Gly Arg Ser Gly Glu Met Ile Lys Lys Ile Gln Asn
210 215 220

Asp Ala Gly Val Arg Ile Gln Phe Lys Gln Asp Asp Gly Thr Gly Pro
225 230 235 240

Glu Lys Ile Ala His Ile Met Gly Pro Pro Asp Arg Cys Glu His Ala
245 250 255

Ala Arg Ile Ile Asn Asp Leu Leu Gln Ser Leu Arg Ser Gly Pro Pro
260 265 270

Gly Pro Pro Gly Gly Pro Gly Met Pro Pro Gly Gly Arg Gly Arg Gly
275 280 285

15/17

Arg Gly Gln Gly Asn Trp Gly Pro Pro Gly Gly Glu Met Thr Phe Ser
290 295 300

Ile Pro Thr His Lys Cys Gly Leu Val Ile Gly Arg Gly Gly Glu Asn
305 310 315 320

Val Lys Ala Ile Asn Gln Gln Thr Gly Ala Phe Val Glu Ile Ser Arg
325 330 335

Gln Leu Pro Pro Asn Gly Asp Pro Asn Phe Lys Leu Phe Ile Ile Arg
340 345 350

Gly Ser Pro Gln Gln Ile Asp His Ala Lys Gln Leu Ile Glu Glu Lys
355 360 365

Ile Glu Gly Pro Leu Cys Pro Val Gly Pro Gly Pro Gly Gly Pro Gly
370 375 380

Pro Ala Gly Pro Met Gly Pro Phe Asn Pro Gly Pro Phe Asn Gln Gly
385 390 395 400

Pro Pro Gly Ala Pro Pro His Ala Gly Gly Pro Pro Pro His Gln Tyr
405 410 415

Pro Pro Gln Gly Trp Gly Asn Thr Tyr Pro Gln Trp Gln Pro Pro Ala
420 425 430

16/17

Pro His Asp Pro Ser Lys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Asp Pro Asn Ala
435 440 445

Ala Trp Ala Ala Tyr Tyr Ser His Tyr Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Pro
450 455 460

Val Pro Gly Pro Ala Pro Ala Pro Ala Ala Pro Pro Ala Gln Gly Glu
465 470 475 480

Pro Pro Gln Pro Pro Pro Thr Gly Gln Ser Asp Tyr Thr Lys Ala Trp
485 490 495

Glu Glu Tyr Tyr Lys Lys Ile Gly Gln Gln Pro Gln Gln Pro Gly Ala
500 505 510

Pro Pro Gln Gln Asp Tyr Thr Lys Ala Trp Glu Glu Tyr Tyr Lys Lys
515 520 525

Gln Ala Gln Val Ala Thr Gly Gly Gly Pro Gly Ala Pro Pro Gly Ser
530 535 540

Gln Pro Asp Tyr Ser Ala Ala Trp Ala Glu Tyr Tyr Arg Gln Gln Ala
545 550 555 560

Ala Tyr Tyr Gly Gln Thr Pro Gly Pro Gly Gly Pro Gln Pro Pro Pro
565 570 575

17/17

Thr Gln Gln Gly Gln Gln Gln Ala Gln
580 585

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/018108

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07C317/44, 323/62, C07D231/12, A61K31/192, 31/415, 45/00, A61P35/00, 25/00, 29/00, 25/28, 43/00, G01N33/15, 33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07C317/00, 323/00, C07D231/00, A61K31/00, 45/00, A61P35/00, 25/00, 29/00, 43/00, G01N33/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
REGISTRY (STN), CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 53-12512 B (Merck & Co., Inc.), 01 May, 1978 (01.05.78), Pages 1 to 4 & DE 2039426 A & US 3654349 A & GB 1276600 A	1-15
X	JP 57-27107 B (Merck & Co., Inc.), 08 June, 1982 (08.06.82), Pages 2 to 3 & US 3692651 A	1-15
X	JP 9-506350 A (G.D. Searle & Co.), 24 June, 1997 (24.06.97), Claims & WO 95/15316 A1 & EP 731795 A1 & US 5466823 A	1-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
01 March, 2005 (01.03.05)

Date of mailing of the international search report
22 March, 2005 (22.03.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/018108

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 11-514991 A (G.D. Searle & Co.), 21 December, 1999 (21.12.99), Claims & WO 97/11704 A1 & EP 854723 A1 & US 5756529 A	1-15
A	JP 2000-186047 A (Cell Pathway, Inc.), 04 July, 2000 (04.07.00), Claims & EP 997145 A1 & US 6200771 B1 & EP 1161943 A2	16-26
A	JP 11-94823 A (Cell Pathway, Inc.), 09 April, 1999 (09.04.99), Claims & US 6500610 B1 & JP 2000-28601 A & US 6156528 A	16-26

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl. ⁷ C07C317/44, 323/62, C07D231/12, A61K31/192, 31/415, 45/00, A61P35/00, 25/00, 29/00, 25/28, 43/00, G01N33/15, 33/50		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl. ⁷ C07C317/00, 323/00, C07D231/00, A61K31/00, 45/00, A61P35/00, 25/00, 29/00, 43/00, G01N33/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) REGISTRY (STN), CA (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 53-12512 B(メルクエント・カムパニー・インコーポレーテッド) 1978.05.01 第1-4頁 & DE 2039426 A & US 3654349 A & GB 1276600 A	1-15
X	JP 57-27107 B(メルク・エント・カムパニー・インコーポレーテッド) 1982.06.08 第2-3 頁 & US 3692651 A	1-15
X	JP 9-506350 A(ジー・ディー・サルアント カンパニー) 1997.06.24 特許請求の 範囲 & WO 95/15316 A1 & EP 731795 A1 & US 5466823 A	1-15
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 01.03.2005	国際調査報告の発送日 22.3.2005	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 前田 憲彦 電話番号 03-3581-1101 内線 3443	4H 8318

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 11-514991 A (シー・ディー・サル・アント・カンパニー) 1999.12.21 特許請求の範囲 & WO 97/11704 A1 & EP 854723 A1 & US 5756529 A	1-15
A	JP 2000-186047 A (セル・パ・スウェイス・インコーポレイテッド) 2000.07.04 特許請求の範囲 & EP 997145 A1 & US 6200771 B1 & EP 1161943 A2	16-26
A	JP 11-94823 A (セル・パ・スウェイス・インコーポレイテッド) 1999.04.09 特許請求の範囲 & US 6500610 B1 & JP 2000-28601 A & US 6156528 A	16-26

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.